

Aus dem Institut für Veterinär-Biochemie der Tierärztlichen
Fakultät der Freien Universität Berlin

(Direktor: Prof. Dr. Dr. K. Drepper)

Untersuchungen über Stoffwechselreaktionen fettlöslicher
Vitamine in Laboratoriumstieren

Der Vitamin-E-(Tocopherol-)Mangel bei der Ratte

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der

Tierärztlichen Fakultät der Freien Universität Berlin

von

Hans-Joachim Dennler

Tierarzt aus Ludwigsburg

Berlin 1968

Journal-Nr. 621



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Veterinär-Biochemie der Tierärztlichen
Fakultät der Freien Universität Berlin

(Direktor: Prof. Dr. Dr. K. Drepper)

Untersuchungen über Stoffwechselreaktionen fettlöslicher
Vitamine in Laboratoriumstieren

Der Vitamin-E-(Tocopherol-)Mangel bei der Ratte

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde

der

Tierärztlichen Fakultät der Freien Universität Berlin

von

Hans-Joachim Dennler

Tierarzt aus Ludwigsburg

Berlin 1968

Journal-Nr. 621

Gedruckt mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin

Dekan: Prof. Dr. G. Bergmann
Referent: Prof. Dr. Dr. K. Drepper
Korreferent: Prof. Dr. K. Bronsch



Tag der mündlichen Prüfung: 5. Juli 1968

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. Einleitung	1
B. Literatur	4
I. Chemie des Vitamins E	4
II. Vorkommen der Tocopherole	7
1. Vorkommen in Futtermitteln	7
2. Vorkommen in tierischen Organen und Produkten	8
III. Vitamin-E-Mangelercheinungen	8
1. Veränderungen der Skelettmuskulatur	9
2. Veränderungen der glatten Muskulatur	10
3. Fruchtbarkeitsstörungen infolge Vitamin-E-Mangels	11
4. Leberschädigungen infolge Vitamin-E-Mangels	12
IV. Stoffwechsel und Biochemie der Tocopherole	14
1. Resorption und Speicherung	14
2. Stoffwechsel der Tocopherole	16
3. Die Tocopherole und ihre Funktion im Organismus	19
Antioxydantische Wirkung	19
Beziehungen zwischen Vitamin E und Enzymen	26
C. Eigene Untersuchungen	30
I. Versuchsziel, Tiermaterial und Methoden	30

	Seite
1. Versuchsziel	30
2. Tiermaterial und Haltung der Tiere	30
3. Versuchskriterien	31
4. Hämolysetest	32
5. Herstellung der Fettsäuremethylester	33
6. Ermittlung "Vitamin-E-positiver" Substanzen	34
II. Vorversuche	37
1. Zusammensetzung der Vitamin-E-Mangel- diät	37
2. Vitamin-E-Bedarfsermittlung	39
III. Hauptversuche	42
1. Vitamin-E-Mangel (I. Versuch)	42
2. Vitamin-E-Bedarf (II.-IV. Versuch)	45
3. Hämatokritwerte	47
4. Ermittlung "Vitamin-E-positiver" Substanzen	47
IV. Besprechung der Ergebnisse	48
V. Zusammenfassung	51
VI. Literaturverzeichnis	53
VII. Tabellenanhang	62

Untersuchungen über Stoffwechselreaktionen fettlöslicher Vitamine in Laboratoriumstieren

Der Vitamin-E-(Tocopherol-)Mangel bei der Ratte

A. Einleitung

Im Rahmen der am Institut für Veterinär-Biochemie der Freien Universität Berlin durchgeführten Untersuchungen über Stoffwechselreaktionen fettlöslicher Vitamine in Laboratoriumstieren sollte es Aufgabe der vorliegenden Arbeit sein, die bei Verabfolgung eines Vitamin-E-armen Futters auftretenden Mangelerscheinungen bei Ratten näher zu charakterisieren.

In der Ernährung der Laboratoriumstiere wurden bis vor wenigen Jahren ausschließlich empirisch zusammengestellte Rationen verwendet. Erst in den letzten Jahren wurden die Rationen mehr und mehr auf Grund der in Tierversuchen ermittelten Bedarfszahlen zusammengestellt. Bei der Ratte ist heute der Bedarf an Nährstoffen für die verschiedenen Leistungen weitgehend bekannt. Beim Vitamin E herrscht in der Literatur jedoch keine einhellige Meinung über den Bedarf. Die "mittlere Fertilitätsdosis" für die Ratte wird mit 0,75 mg α -Tocopherol/Tier und Tag, die minimale Tagesdosis mit 1/15 bis 1/20 dieser Menge angegeben (SEBRELL und HARRIS, 1954). Andere Autoren halten eine Tagesdosis von 0,3 bis 0,6 mg α -Tocopherol für eine optimale Fertilität bei Ratten unter Vitamin-E-Mangelfütterung für notwendig (z.B. IWANOWSKA, 1958). Im allgemeinen betragen die Vitamin-E-Gehalte der in der Literatur angegebenen Diäten zwischen 50

und 200 mg/kg Diät. In den NUTRIENT REQUIREMENTS OF LABORATORY ANIMALS (1962) werden 0,6 mg Vitamin E (α -Tocopherol) als Tagesdosis für Wachstum, Reproduktion und Laktation bei der Ratte angegeben, wenn die Diät 5 % Fett enthält.

Man weiß heute, dass bestimmte Futtermittelinhaltsstoffe die Ausbildung von Vitamin-E-Mangelsymptomen beschleunigen können. In erster Linie werden die ungesättigten Fettsäuren angeführt (WEBER und WISS, 1966; BLAXTER, 1962; DAM, 1962; DAM et al., 1958). Versuche von WEBER und WISS (1966) haben gezeigt, dass bei Ratten mit steigenden Linolsäuregaben in der Diät ein Mehrbedarf von 0,5 mg dl- α -Tocopherylacetat je g Linolsäure besteht (s. auch WEBER et al., 1964).

Verschiedene andere mit der Nahrung zugeführte Substanzen haben ebenfalls einen Einfluß auf den Vitamin-E-Bedarf. Zum Beispiel kann eine durch Selen- und/oder Methioninmangel in der Diät bedingte Lebernekrose durch prophylaktische Verabreichung erhöhter Vitamin-E-Gaben verhindert werden (HORWITT, 1962; SCHWARZ 1960). Auch Protein-, Vitamin B₁₂- und Folsäuremangel (HOVE und HARDIN, 1951 a, b) sowie Vitamin-B₆-Mangel (DAY und DINNING, 1956) steigern den Vitamin-E-Bedarf.

Spezifische Antivitamine zum Vitamin E sind nicht bekannt. Unter dem Begriff Antivitamin versteht man eine dem Vitamin strukturähnliche Substanz, die mit dem Vitamin am Wirkungsort konkurriert oder dieses verdrängt (KÖHNAU, 1966). Man kennt jedoch neben den ungesättigten Fettsäuren eine Reihe von Stoffen, die antagonistisch zum Vitamin E wirken, aber keine Antivitamine im eigentlichen Sinne darstellen (WEBER und WISS, 1966).

Die Zufuhr sehr hoher Dosen Vitamin A zum Beispiel erfordert zum Oxydationsschutz eine erhöhte Vitamin-E-Zufuhr (PUDELKIEWICZ et al., 1964; BRUBACHER, 1965). Antivitamine im eigentlichen Sinne wird man erst dann finden können, wenn über die spezifische Wirkung der Tocopherole mehr bekannt sein wird.

Zunehmend wird heute in der Vitamin-E-Forschung die Auffassung vertreten, dass die Tocopherole im Organismus ausschließlich als Antioxydantien wirken. Diese Funktion betrifft vorwiegend die leicht oxydierbaren Lipide, die durch die Tocopherole vor Zerstörung und damit vor Funktionsverlust geschützt werden. Die Tocopherole werden dabei selbst zu den entsprechenden Chinonen oxydiert.

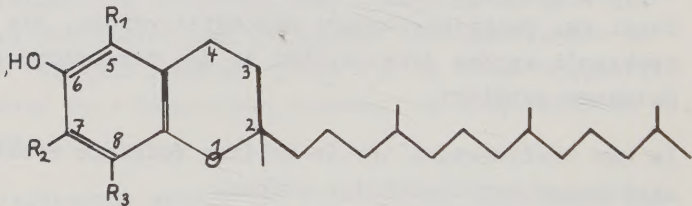
In der vorliegenden Arbeit sollten folgende Problemstellungen berücksichtigt werden:

1. Erarbeitung von Rationen, die sowohl bei wachsenden wie bei ausgewachsenen Ratten reproduzierbar einen Vitamin-E-Mangel hervorrufen.
2. Erarbeitung von Bedarfszahlen für Vitamin E für die wachsende Ratte in Abhängigkeit vom Gehalt der Diät an ungesättigten Fettsäuren.

B. Literatur

I. Chemie des Vitamins E

Unter dem Begriff Vitamin E versteht man heute eine Gruppe von chemisch verwandten Verbindungen, den Tocopherolen. Es sind acht solche Verbindungen bekannt, die sich nur in der Anzahl und der Stellung der am Chromankern gebundenen Methylgruppen unterscheiden. Die Strukturformel lautet:



Folgende Tocopherole sind bekannt, wobei die von KARRER und FRITSCH (1938) vorgeschlagene Nomenklatur verwendet wird:

R ₁	R ₂	R ₃	Name (Chemisch)	internationale Bezeichnung 1)
CH ₃	CH ₃	CH ₃	5,7,8-Trimethyltolcol	α-Tocopherol
CH ₃	H	CH ₃	5,8-Dimethyltolcol	β-Tocopherol
H	CH ₃	CH ₃	7,8-Dimethyltolcol	γ-Tocopherol
CH ₃	CH ₃	H	5,7-Dimethyltolcol	δ-Tocopherol
H	H	CH ₃	8-Methyltolcol	ε-Tocopherol
H	CH ₃	H	7-Methyltolcol	ζ-Tocopherol
CH ₃	H	H	5-Methyltolcol	---
H	H	H	Tocol	---

- 1) Die Biochemische Nomenklaturkommission der Internationalen Vereinigung für reine und angewandte Chemie (I.U.P.A.C., 1960) hat den Gebrauch der internationalen Bezeichnung "Tocopherol" empfohlen, wobei jeweils die griechischen Buchstaben vorangestellt werden sollen.

Das Tocol und das 5-Methyltocol kommen in der Natur nicht vor. Sie sind synthetische Verbindungen.

Es gibt außerdem noch zwei Tocopherole mit ungesättigter Seitenkette in 2-Stellung, die Tocotrienole, die von GREEN und MITARB. (1960) identifiziert wurden.

R ₁	R ₂	R ₃	Name (chemisch)	internationale Bezeichnung
CH ₃	CH ₃	CH ₃	5,7,8-Trimethyltocotrien-3',7',11'-ol	γ-Tocopherol
CH ₃	H	CH ₃	5,8-Dimethyltocotrien-3',7',11'-ol	ε-Tocopherol

Die Synthese des α-Tocopherols gelang zuerst KARRER und MITARB. (1938 a,b) durch Kondensation von Trimethylhydrochinon mit Phitylbromid. Schon bald aber wurde das Phitylbromid durch das natürliche Phytol (KARRER und ISLER, 1938; BERGEL et al., 1938 a,b; SMITH et al., 1939; FIESER et al., 1940) oder Iso-phytol (KARRER und ISLER, 1941) ersetzt.

In den folgenden Jahren wurden sämtliche Tocopherole synthetisch dargestellt und ihre Struktur aufgeklärt (WEICHET, 1965).

Die Tocopherole sind bei Raumtemperatur farblose bis schwach gelblich gefärbte viskose Öle. Sie sind

in Wasser unlöslich, in Fetten und organischen Lösungsmitteln, wie z.B. in Diäthyläther und Petroläther, und in Chloroform gut löslich. Durch Luftsauerstoff und andere oxydierende Substanzen, wie Ozon, Silbernitrat und Kaliumpermanganat, werden die Tocopherole rasch oxydativ zerstört. Diese Empfindlichkeit gegenüber Luftsauerstoff ist um so geringer, je weniger Methylgruppen am Chromanring gebunden sind. Peroxyde ranziger Fette oxydieren das Vitamin E zu Tocopherylchinon, also zu physiologisch wesentlich weniger wirksamen Verbindungen (OLCOTT, 1938). Durch Zugabe von Antioxydantien kann diese zerstörende Wirkung verhindert werden.

Die Tocopherole besitzen drei asymmetrische Kohlenstoffatome: C₂, C₄' und C₈', wenn man die von KARRER und MITARB. (1939) vorgeschlagene Nummerierung der Kohlenstoffatome zugrundelegt. Sie sind also optisch aktiv. Von KOFLER und MITARB. (1962) wurden für natürliches d- α -Tocopherol (Konzentration = 6,845 g pro 100 ml Äthanol) folgende Werte für die optische Drehung des polarisierten Lichts angegeben:

$$[\alpha]_{546}^{25} = 1,40^{\circ} \quad [\alpha]_{589}^{25} = 1,17^{\circ} \quad [\alpha]_{436}^{35} = 2,36^{\circ}$$

Die biologische Wirksamkeit der einzelnen Tocopherole ist der folgenden Aufstellung zu entnehmen (NIESAR, 1965):

dl- α -Tocopherol (synthetisches Produkt)	1,0
d- α -Tocopherol	1,4 - 2,0
d- γ -Tocopherol	1,4 - 2,0 (?)
d- β -Tocopherol	0,3
d- γ -Tocopherol	0,01
d- η -Tocopherol	0,01 (?)
d- δ -Tocopherol	0,01 (?)
5-Methyltocol	0,05
Tocol	-

δ -Tocopherol hat jedoch die größte, α -Tocopherol die geringste antioxydantische Wirkung.

II. Vorkommen der Tocopherole

1. Vorkommen in Futtermitteln

Die Tocopherole sind in der Natur weit verbreitet und sind allgemein vergesellschaftet mit den Lipiden in Pflanzen. Besonders reich an Vitamin E sind die Keime von Getreidekörnern. In den Pflanzenölen ist das Vitamin E im unverseifbaren Anteil enthalten. Nach BINNINGTON und ANDREWS (1941) liegt der Gehalt an Gesamttocopherolen in 100 g Samen von Weizen, Reis, Erbsen, Bohnen und Mais etwa in der Größenordnung von 1 bis 3 mg. BROWN (1953) fand in Gräsern, Klee und Luzerne zwischen 10 bis 40 mg/100 g Trockensubstanz. Bei der Trocknung von Gräsern ist eine zum Teil erhebliche Abnahme des Gesamttocopherolgehaltes feststellbar (bis zu 90 %), während durch Silierung keine nennenswerten Verluste auftreten. Der Anteil an α -Tocopherol ist in den einzelnen Pflanzen unterschiedlich. Im Hafer und in der Gerste sind 26 bzw. 10 % des Gesamttocopherolgehaltes α -Tocopherol, der Rest ist β -Tocopherol. Mais enthält 10 % α -Tocopherol, die restlichen 90 % sind γ -Tocopherol (HILL, 1957).

Für die Fütterung ist wichtig, dass mit zunehmendem Wachstum und zunehmender Reife der Pflanzen der α -Tocopherolgehalt absinkt (BROWN, 1953).

Eine gute Übersicht über den Tocopherolgehalt verschiedener Pflanzen und Pflanzenöle findet sich in "Vitamine", Bd. II, von FRAGNER (1965).

2. Vorkommen in tierischen Organen und Produkten

Der Vitamin-E-Gehalt in Milch, Butter, Eigelb, Blut, Fleisch und Fett hängt von der Ernährung ab. So wurden von verschiedenen Autoren sehr unterschiedliche Werte gefunden. Nach den Standardblutwerten von ALBRITTON (1953) hat der Mensch Blutwerte von 1,2 mg Vitamin E/100 ml, der Hund 0,6 mg/100 ml, das Rind 0,2 bis 0,5 mg/100 ml und das Schwein 0,1 mg/100 ml. BRÜGGEMANN und NIESAR (1954) fanden im Blut vom Rind 0,12 bis 0,60 mg/100 ml, vom Schwein 0,05 bis 0,55 mg/100 ml und vom Schaf 0,04 bis 0,4 mg/100 ml. Im Sommer ergaben sich beim Rind höhere Werte (0,08 mg/100 ml) als im Winter (0,005 bis 0,01 mg/100 ml) (HILL, 1957). Das Pferd hat einen geringeren Vitamin-E-Blutspiegel, der das ganze Jahr über konstant bleibt (v.d. KAAG et al., 1949). In der Kuhmilch wurden unterschiedliche Werte gefunden. EMMERIE und ENGEL (1943) fanden 0,020 mg/100 ml, KOFLER (1942, 1943) 0,090 bis 0,120 mg/100 ml und ABDERHALDEN (1947) im Durchschnitt 0,06 mg/100 ml. Auch in der Milch sind die Vitamin-E-Gehalte jahreszeitlich von der Fütterung abhängig.

Im Organismus ist das Vitamin E in fast allen Organen anzutreffen. Es wird jedoch besonders in der Hypophyse, Nebenniere, Leber und im Fettgewebe angereichert (WISS et al., 1962; ABDERHALDEN, 1945; QUAIFFE et al., 1949).

III. Vitamin-E-Mangelerscheinungen

Ursprünglich wurde angenommen, dass durch das Vitamin E ausschließlich Fruchtbarkeitsstörungen hervor-

gerufen werden. Das Vitamin, das damals noch nicht näher charakterisiert war, erhielt den Namen "Antisterilitätsvitamin". Inzwischen ist bekannt, dass bei Vitamin-E-Mangel nicht nur die Fertilität gestört ist, sondern dass die Symptome vielfältiger Art sein können. Im Vordergrund stehen heute extragenitale Mangelsymptome im Bereich der Muskulatur, der Leber, des Fettgewebes, des Nerven- und des Kreislaufsystems.

1. Veränderungen der Skelettmuskulatur

EVANS und BURR (1928) beschrieben als erste neuromuskuläre Ausfallerscheinungen bei Jungtieren von E-avitaminotischen Rattenmüttern, die sich in Form von Paresen und totalen Lähmungen äußern. Es kommt zu wachsartiger Degeneration bestimmter Muskelfaserabschnitte, zu interstitiellen Ödemen, leukozytärer Infiltration und teilweisem Zerreißen der Muskelfasern unter Pigmentablagerung. Histologisch sieht man zunächst Vergrößerungen der Muskelzellkerne, dann Ausbildung von Riesenkernen, Einschnürungen und amitotische Proliferation (RUPPEL, 1949). In zunehmendem Maße verschwindet die Querstreifung, die fibrilläre Substanz unterliegt einer hyalinen Nekrose, es folgen Kernzerfall, Zerreißen der Sarkolemmschläuche und schließlich Beseitigung der Trümmer durch Makrophagen. In fortgeschrittenen Fällen ist keine Regeneration mehr möglich (TONUTTI, 1943).

Vor dem Auftreten klinischer Anzeichen einer Muskeldystrophie ist eine starke Kreatinausscheidung im Harn als Zeichen eines gestörten Muskelstoffwechsels feststellbar. Die als nutritive Muskeldystrophie bezeichnete Erkrankung wurde außer bei

der Ratte auch bei Meerschweinchen (ROGERS und PAPPENHEIMER, 1931), Kaninchen (ALOISI und MELDOLISI, 1940), Küken (DAM und GLAVIND, 1939) und Hunden (ANDERSON et al., 1939) nachgewiesen. Kälber und Lämmer erkranken an natürlichen Muskeldystrophien, die unter dem Namen "white muscle disease" bzw. "stiff lamb disease" bekannt sind. Diese Erkrankungen lassen sich auch experimentell durch einen Vitamin-E-Mangel oder durch Zufuhr größerer Mengen ungesättigter Fettsäuren mit der Nahrung erzeugen. Bei beiden Ursachen stimmen die histologischen Befunde überein. Daraus kann geschlossen werden, dass an der Entstehung der natürlichen Muskeldystrophie der Kälber und Lämmer ein Vitamin-E-Mangel beteiligt ist (KLUSSENDORF, 1955; CULIK et al., 1951). Am Herzmuskel treten gleichfalls Veränderungen auf. Es wurden bei Kaninchen, Ratte, Maus, Kalb, Schaf und Ziege hyaline Nekrosen beschrieben, die durch Vitamin-E-Mangel verursacht wurden (zit. nach HILL, 1957).

2. Veränderungen an der glatten Muskulatur

Mikroskopisch lassen sich bei der Ratte bei Vitamin-E-Mangel in der Nahrung an der gesamten glatten Muskulatur Veränderungen nachweisen. Außer am Uterus finden sich auch an Eileiter, Samenbläschen, Prostata, Ductus deferens, Dünndarm, Bronchien und Venen solche Schäden (MASON und EMMEL, 1945). Durch Pigmenteinlagerungen werden die Myofibrillen mehr und mehr auseinandergedrückt. Pigmentbeladene Makrophagen wandern in das intramuskuläre Bindegewebe ein. Sie können so zahlreich sein, dass die Muskelfasern im histologischen Bild völlig von ihnen verdeckt werden (LOPES de FARIA, 1949). Das führt, zum Beispiel am Uterus, zur Fibrosierung der

Wandung, die für die Fortpflanzungsstörungen verantwortlich gemacht wird (LOPES de FARIA, 1946; DEMOLE und PFALTZ, 1939).

3. Fruchtbarkeitsstörungen infolge Vitamin-E-Mangels

EVANS und BISHOP (1922) machten als erste die Beobachtung, dass bei Ratten Fruchtbarkeitsstörungen auftraten, wenn man eine Diät an sie verfütterte, die in weitgehend reiner Form alle damals bekannten Nährstoffe in ausreichender Menge enthielt. Die Fruchtbarkeitsstörungen, die sich schon in der zweiten Generation zeigten, ließen sich durch Zufuhr grüner Pflanzen heilen. Wenig später wurde erkannt, dass es sich um einen fettlöslichen Wirkstoff handeln mußte, der beim Fehlen in der Diät für diese Schäden verantwortlich war. Sie nannten diesen Wirkstoff "Antisterilitätsvitamin". SURE (1924) gab diesem Stoff den Namen "Vitamin E".

Erhalten Rattenweibchen eine Vitamin-E-freie Diät, und werden sie nach einer bestimmten Zeit mit normal ernährten Männchen gepaart, so kommt es, meist erst bei der zweiten Trächtigkeit, zum Absterben der Foeten und zu Frühgeburten toter oder lebensschwacher Foeten. Es erfolgt zunächst eine normale Befruchtung und Nidation der Eier. Acht bis neun Tage nach der Paarung setzt aber eine Verzögerung der foetalen Weiterentwicklung ein, schließlich kommt es zu einer Störung des Blutkreislaufes in der Placenta durch mangelhafte Ausbildung der foetalen und placentaren Blutgefäße (ZAGAMI und SINDONI, 1934). Das hat über eine Hypoxie eine verzögerte Entwicklung und endlich den Tod des Foetus zur Folge. Nun tritt rasch Nekrose und Resorption des Foetus ein (EVANS und BURR, 1927). Auch MARKEES

(1956) vertritt die Ansicht, dass die Fruchtbarkeitsstörungen sekundär durch Schädigungen des Blutgefäßsystems bedingt werden.

Für die Maus (GOETTSCH, 1942) und den Hamster (MASON, 1954) gilt Ähnliches. Bei beiden wurde Tod und Resorption der Foeten beobachtet.

Bei den Männchen von Ratte (EVANS und BURR, 1928), Hamster (MASON et al., 1955) und Meerschweinchen (CURTO, 1954) tritt infolge eines Vitamin-E-Mangels Hodendegeneration mit nachfolgender Unfruchtbarkeit auf.

4. Leberschädigungen infolge Vitamin-E-Mangels

GYÖRGY (1942) und SCHWARZ (1944 a, b) berichteten zum ersten Mal darüber, dass bei Ratten, an die eine proteinarme Diät verfüttert worden war, Lebernekrosen auftraten. SCHWARZ (1944 b) und HINSWORTH (1949) konnten das Auftreten von Nekrosen durch Vitamin-E-Gaben verhindern. SCHWARZ (1951 a, 1954) wies nach, dass diese Nekrosen immer dann auftraten, wenn die Diäten einen niedrigen Gehalt an schwefelhaltigen Aminosäuren aufwiesen und kein Tocopherol und keinen Faktor 3, eine selenhaltige organische Verbindung, enthielten. Später stellten SCHWARZ und MITARB. (1959, 1960) fest, dass die schwefelhaltigen Aminosäuren allein die Entwicklung der Lebernekrosen zwar verzögern sie aber nicht völlig verhindern können, während Vitamin E und Faktor 3 unabhängig voneinander vollen Schutz gewähren.

Nach SCHWARZ (1960) lassen sich drei Gruppen von Erkrankungen einteilen:

- a. Ausschließlich durch Vitamin-E-Mangel bedingt, nicht durch Faktor 3 beeinflussbar. Hierzu gehören die Resorptionssterilität der Ratten und die Encephalomalacie der Hühner.
- b. Ausschließlich durch ^{Mangel an} Faktor 3 bedingt, nicht durch Vitamin E beeinflussbar (z.B. Atrophie der Nebenniere, Pankreasdystrophie, verringertes Wachstum).
- c. Durch Mangel an Vitamin E und Faktor 3 bedingt. Hierzu zählt SCHWARZ die diätetische Lebernekrose der Ratte, die multiple Nekrose der Maus, die Muskeldystrophie des Nerzes, die Lebernekrose und Muskeldystrophie des Schweins und die exsudative Diathese des Huhnes und Truthahnes.

Auch zwischen anderen Nahrungsfaktoren und Vitamin E bestehen Beziehungen: So sind die Lebergehalte von Vitamin-E-Mangeltieren an Vitamin A und Glykogen herabgesetzt (BOMSKOW und v. KAULA, 1941; HORN et al., 1955). Beim Zustandekommen der toxischen Leberdystrophie des Schweins, die sich durch Verfütterung ranzigen Lebertrans erzeugen läßt, ist ein Mangel an Vitamin E und schwefelhaltigen Aminosäuren beteiligt (OBEL, 1953). Wird an Schweine eine Diät verfüttert, die reich an ungesättigten Fettsäuren oder Vitamin-E-frei ist, so kommt es zur Ceroidbildung in der Leber. Die Zufuhr von Vitamin E verhindert dies (VICTOR und PAPPENHEIMER, 1945).

Die Lebern von Vitamin-E-Mangeltieren sind geschwollen und haben ein marmoriertes Aussehen, oder sie sind gleichmäßig gelb oder rosa verfärbt (SCHWARZ, 1944 a, b; HOVE et al., 1949). Die Veränderungen erstrecken sich auf alle Leberlappen.

Histologisch erkennt man anfänglich starke degenerative Verfettungen mit Erweiterung der Sinus, Ceroideinlagerungen und Granulabildung im Plasma, degenerative Veränderungen am Kern der Leberzellen, zentrolobuläre Nekrosen und Kapillarrupturen (HOVE et al., 1949; SCHWARZ, 1944 a, b; FITE, 1954).

Außer durch die verschiedenen Ausfallerscheinungen läßt sich ein Tocopherolmangel leicht durch den sogenannten Hämolysetest nachweisen. GYÖRGY und ROSE (1949) stellten fest, dass Erythrozyten von Vitamin-E-Mangelratten gegenüber Dialursäure eine herabgesetzte Hämolyseresistenz aufwiesen, und entwickelten daraus einen biologischen Test. FRIEDMANN et al. (1958) modifizierten und standardisierten diesen Test. Anstelle von Dialursäure wurde in verschiedenen Arbeiten zur Feststellung des Grades einer verminderten Hämolyseresistenz bei Vitamin-E-Mangel Wasserstoffsuperoxyd verwendet (HORMITT, 1956; BRÜGGEMANN et al., 1963).

IV. Stoffwechsel und Biochemie der Tocopherole

1. Resorption und Speicherung

Der Resorptionsmechanismus des Vitamins E entspricht dem anderer fettlöslicher Vitamine. Die Resorption ist wahrscheinlich eng mit der des Fettes verknüpft und wird durch die Anwesenheit von Gallensekret beschleunigt. Daneben soll dem Magen bei der Resorption der Tocopherole eine gewisse Bedeutung zukommen (STERNBERG und PASCOE-DAWSON, 1959).

Der größte Teil einer verabreichten Testdosis von

Tocopherol wird durch den Kot ausgeschieden. SIMON et al. (1956 a) stellten in Versuchen mit 5-Methyl-C¹⁴-markiertem d- α -Tocopherylsuccinat fest, dass sich bei Kaninchen, denen eine Einzeldosis von 10 bis 15 mg verabfolgt wurde, innerhalb von drei Tagen 65 % und innerhalb von sechs Tagen 80 % der zugeführten Dosis in den Faeces wiederfanden. 90 % der Radioaktivität in den Faeces wurden mittels der Isotopenverdünnungsmethode als freies α -Tocopherol identifiziert. Hühner, die längere Zeit 1 g α -Tocopherol/Tag erhielten, schieden 75 % der aufgenommenen Menge im 24-Stunden-Kot unverändert aus (DJU et al., 1950). PUDELIKIEWICZ und MATTERSON (1960) stellten im Gegensatz hierzu fest, dass Hühner, an die man eine Diät mit einem Gehalt von 17,5 und 35 mg α -Tocopherol/kg verfütterte, nur etwa 23 % des aufgenommenen Tocopherols durch den Kot ausschieden. Sie bestimmten dabei die Menge der aufgenommenen und mit α -Tocopherylacetat supplementierten Diät und den Gehalt im Kot von 48 Stunden.

Diese und andere Stoffwechselstudien zeigen, dass die Resorption der Tocopherole unvollständig ist. Allem Anschein nach hängt die Menge des resorbierten Tocopherols von der jeweiligen Bedarfslage im Organismus ab (KLATSKIN und MOLANDER, 1952 a). Außerdem scheinen Resorption und Ausscheidung vom Angebot der mit der Nahrung zugeführten Tocopherole abzuhängen (CUTHBERTSON et al., 1940).

Zwischen dem Logarithmus der aufgenommenen Tocopherolmenge und dem Logarithmus des Tocopherolgehaltes in der Leber besteht eine lineare Beziehung (BOLLIGER und BOLLIGER-QUAIFE 1956) bei der Ratte.

GRIFFITHS (1960) fand für das Huhn eine lineare Beziehung zwischen dem Logarithmus des Tocopherolgehaltes des Serums und dem Logarithmus des Vitamin-E-Gehaltes in der Diät. Derselbe Autor bestimmte außerdem bei wachsenden Küken das Verhältnis der Leberspeicherung von reinem α -, β -, γ - und δ -Tocopherol als 100 : 41 : 19 : 0. Diese Befunde stehen jedoch im Gegensatz zu den Untersuchungen von GRAY (1960), der bei hohen Tocopherolaufnahmen wesentlich geringere Plasmatocopherolgehalte fand (Ratte) als GRIFFITHS im Serum (Huhn).

WISS et al. (1962) konnten beim Huhn ebenfalls mathematische Beziehungen zwischen dem Logarithmus der Tocopherolaufnahme und den Logarithmen der Plasma- und Lebergehalte bei Verabfolgung hoher Dosen von d- α -Tocopherylacetat feststellen (2000 bis 20 000 I.E./kg Futter). Außerdem wiesen sie durch Verwendung von C^{14} -dl- α -Tocopherylacetat nach, dass die maximale Konzentration in der Leber erst nach einigen Stunden erreicht wird und länger bestehen bleibt als bei dem synthetisch hergestellten Antioxydans Ethoxyquin (6-ethoxy-1,2-dihydro-2,2,4-trimethylquinolin), das bereits nach 30 Minuten die maximale Konzentration erreicht und schnell wieder eliminiert wird. Die Untersuchungen derselben Autoren ergaben, dass die Hauptmenge der Tocopherole an die Strukturbestandteile der Leberzelle, vornehmlich an die Mitochondrien und Mikrosomen, gebunden ist.

2. Stoffwechsel der Tocopherole

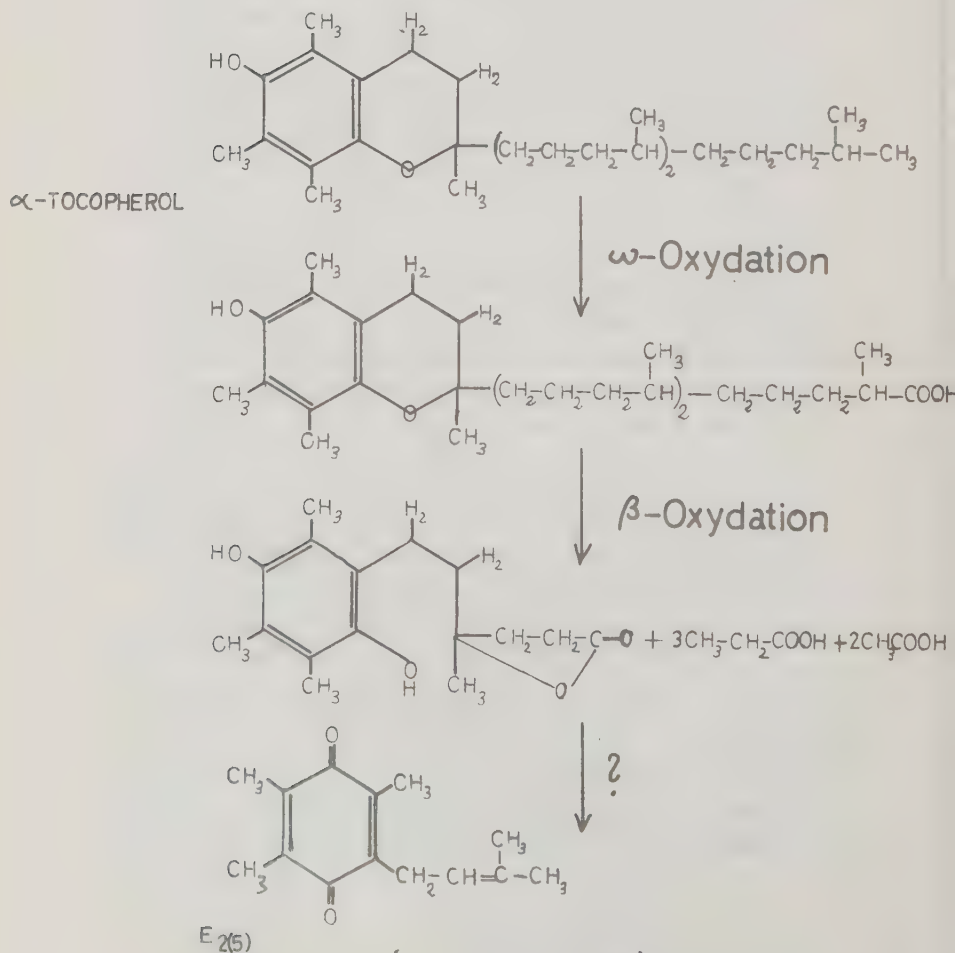
Appliziert man Kaninchen markiertes 5-Methyl- C^{14} - α -Tocopherolsuccinat in ölgiger Lösung unter die Haut, so erfolgt eine sehr langsame Resorption und infolgedessen auch eine sehr langsame Aus-

scheidung im Harn und Kot (SIMON et al., 1954). Nach 15 Tagen erscheinen 20 bis 30 % der applizierten Tocopherolmenge im Harn, und zwar zu 90 % als Metaboliten und 70 bis 80 % in den Faeces, wobei in letzterem Fall 50 % der Radioaktivität freies α -Tocopherol, der Rest Metaboliten darstellen. Nach der intravenösen Zufuhr von markiertem α -Tocopherylsuccinat konnte bereits nach zwei Stunden Radioaktivität im Harn nachgewiesen werden (SIMON et al., 1955, 1956 a). Damit wurde bestätigt, dass der Hauptanteil des Tocopherols bzw. seiner Metaboliten über den Darm ausgeschieden wird, was von KLATSKIN und MOLANDER (1952 a,b) schon früher angenommen wurde. Die Hauptmenge des mit dem Urin ausgeschiedenen Stoffwechselproduktes von α -Tocopherol liegt in Form eines Glucuronides vor.

SIMON et al. (1956 b) wiesen im menschlichen Urin zwei neue Stoffwechselprodukte des α -Tocopherols nach, die hauptsächlich in konjugierter Form vorliegen. Sie identifizierten sie als 2-(3-hydroxy-3-methyl-5-carboxypentyl)-3,5,6 trimethylbenzochinon und dessen γ -Lacton.

MARTIUS (1962) fand in Lebermitochondrien ein Stoffwechselprodukt des Tocopherols, das er als Geranylgeranylfarnesylfarnesyltrimethylbenzochinon identifizieren konnte, und das er analog den Verhältnissen beim Vitamin K₂ mit der Abkürzung E₂(50) versah. MARTIUS vertritt die Auffassung, dass dieses Stoffwechselprodukt durch Verlängerung der Seitenkette entsteht, wie es schon bei Versuchen mit Ubichinon beobachtet wurde. Die von SIMON et al. gefundenen Stoffwechselprodukte sollen durch Oxydation am endständigen Kohlenstoff-

atom der Seitenkette mit nachfolgender β -Oxydation der Seitenkette entstehen. Die Autoren deuten diese Metaboliten als physiologische Abbauprodukte des Tocopherols. MARTIUS hingegen hält es eher für möglich, dass die Verkürzung der Seitenkette dazu dient, neue funktionelle Metaboliten aufzubauen. Ein solches Stoffwechselprodukt wäre zum Beispiel Trimethylpentenylbenzochinon (= $E_2(5)$), aus dem durch Verlängerung der Seitenkette das $E_2(50)$ entstehen könnte.



(nach MARTIUS, 1962)

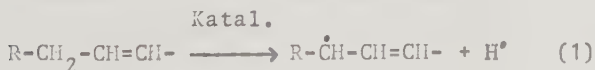
3. Die Tocopherole und ihre Funktion im Organismus

In der Literatur treten immer deutlicher zwei Gruppen von Autoren hervor, die bezüglich der Wirkung des Vitamins E sehr unterschiedliche Auffassungen vertreten. Die eine Gruppe, der unter anderen SCHWARZ (1962) und MARTIUS (1962) angehören, schreibt dem Vitamin E neben seiner antioxydativen und somit mehr unspezifischen Wirkung eine spezifische Stoffwechselfunktion zu; die andere Gruppe, zu der unter anderen TAPPEL (1962), DAM (1957) und BOYER (1960) zählen, ist der Ansicht, dass dem Vitamin E ausschließlich eine Funktion als Antioxydans zuzuschreiben ist.

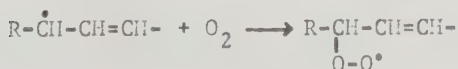
Antioxydantische Wirkung

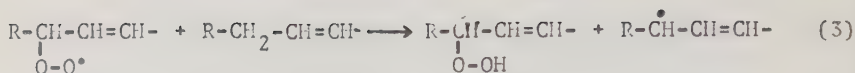
Die antioxydantische Wirkung der Tocopherole wurde von OLCOTT und MATILL (1941) entdeckt. Inzwischen haben viele Autoren diese Wirkung bestätigt und an der Aufklärung dieser Funktion gearbeitet (DAM, 1957; BOYER, 1960; HORWITT, 1961).

Die grundlegenden chemischen Reaktionen bei der Autoxydation ungesättigter Fettsäuren sind folgenden Gleichungen zu entnehmen (WIESNER, 1967):



Diese Reaktion wird durch Katalysatoren, wie zum Beispiel Licht, Wärme, Enzyme oder Schwermetalle, induziert. Es entsteht ein freies Radikal, das nun mit dem Sauerstoff reagiert:





In Gleichung 3 reagiert das freie Radikal aus Gleichung 2 mit einer zweiten Fettsäure und es entsteht ein Peroxyd und ein neues Radikal, das seinerseits mit Sauerstoff weiterreagiert. Die Peroxyde zerfallen spontan weiter in Radikale und beschleunigen somit die Autoxydation:



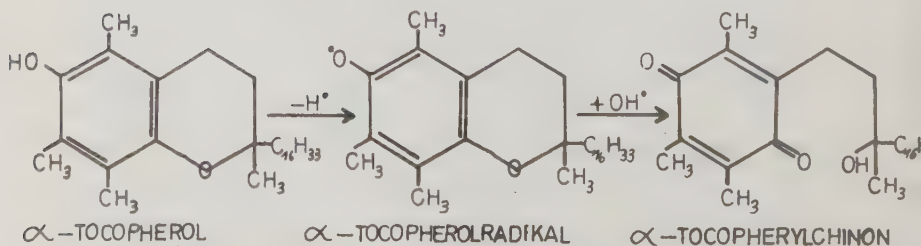
R = Fettsäurerest

Diese Autoxydationsvorgänge können nun durch Antioxydantien verhindert werden (LUNDBERG, 1962):



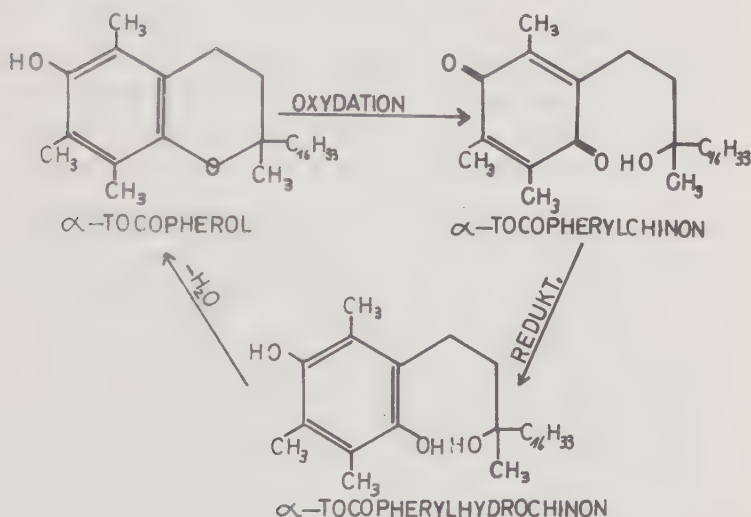
XH_2 = Antioxydans

Durch die antioxydantische Wirkung des Tocopherols wird dabei Wasserstoff abgespalten und das Tocopherol wird über ein instabiles Zwischenprodukt zum Tocopherylchinon oxydiert (TAPPEL, 1962; CSALLANY und DRAPER, 1962):

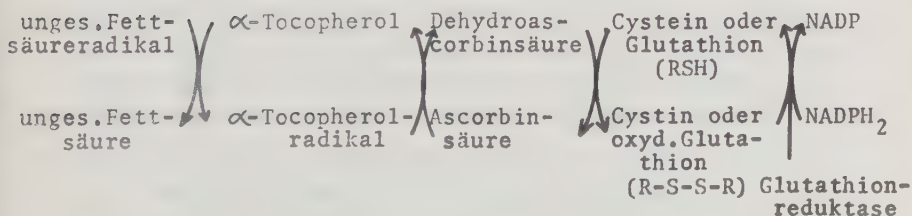


(nach TAPPEL, 1962)

Das α -Tocopherylchinon kann zum α -Tocopherylhydrochinon reduziert werden, aus dem durch Zyklisation wieder das ursprüngliche α -Tocopherol gebildet werden kann (KOSTIR, 1965):



Diese drei Substanzen bilden also ein Redoxsystem. Nach TAPPEL (1962) sollen die Tocopherole aber auch durch ein anderes Redoxsystem, das Ascorbinsäure-Glutathion-System, reduziert werden können. Die antioxydative Wirkung der Tocopherole gegenüber ungesättigten Fettsäuren würde sich demnach durch folgendes Schema beschreiben lassen:



Mit diesem Schema ließe sich die schützende Wirkung von Cystein gegen die Lebernekrose (SCHWARZ,

1951 b) und ernährungsbedingte Muskeldystrophie (SCOTT, 1962) erklären. Auch BIERI et al., (1961) wiesen einen antioxydativen Effekt von mit der Nahrung zugeführtem Cystein in Gewebslipiden nach.

Die chemische Grundlage für die Funktionsweise des Vitamins E ist also eine Reaktion (1.) mit Zwischengliedern, die bei der Peroxydation von Fetten entstehen und freie Radikale haben, und (2.) mit den Peroxyden selbst.

Viele Mangelsymptome sind von einer Peroxydation der Fette begleitet. Da polyungesättigte Fettsäuren sehr leicht Peroxyde bilden, ist es verständlich, dass sich eine Erkrankung schneller erzeugen läßt, wenn die Diät reich an ungesättigten Fettsäuren ist. Durch Gaben von Vitamin E läßt sich die exsudative Diathese (DAM und GRANADOS, 1945) und Encephalomalacie der Hühner, die braune Verfärbung des Uterus und die Depigmentation der Incisivi von Ratten, sowie die Entleerung der Vitamin-A-Speicher in der Leber von Ratten und Hühnern verhindern (DAM, 1957).

Wenn man die Funktion der Tocopherole mit der Verhinderung einer Peroxydation von ungesättigten Fettsäuren in Zusammenhang bringt, findet man in der Literatur viele Angaben und Befunde, die eine Erklärung für verschiedene Mangelerkrankungen erlauben. Durch die Lipidperoxydation werden vorwiegend Zellmembranen und die Membranen intrazellulärer Organe zerstört (TAPPEL, 1962). Die herabgesetzte Resistenz der Erythrozyten gegenüber hämolytischen Einflüssen ist ein Beispiel für eine solche Membranzerstörung durch Peroxydation ungesättigter Membranlipide (TSEN und COLLIER, 1960).

Auch Mitochondrien- und Mikrosomenmembranen werden zerstört, wobei die in diesen Organellen enthaltenen Enzyme inaktiviert werden. Eine in vitro Zugabe von Vitamin E verhindert die Lipidperoxydation (TAPPEL und ZALKIN, 1959).

De DUVE (1959) bezeichnete die Lysosomen als "Selbstmordeinrichtungen der Zelle", da ihr Inhalt im Wesentlichen aus sauren Hydrolasen besteht, die nach dem Austritt aus den Lysosomen eine Auflösung der Zellen bewirken. Durch die Aktivität dieser Hydrolasen läßt sich auch leicht das Zustandekommen der nutritiven Muskeldystrophie erklären, wie sie ZALKIN et al. (1962) am Beispiel des Kaninchens beschrieben haben. Diese Autoren haben die lysosomalen Enzymaktivitäten in der Extremitätenmuskulatur von Vitamin-E-Mangeltieren gemessen und stellten hierbei eine Vermehrung um das Vielfache der ursprünglichen Aktivitäten fest. Sie führen diese Steigerung der Aktivität auf das Eindringen von Makrophagen und anderen phagozytierenden Zellen mit ihrem hohen Gehalt an lysosomalen Enzymen in die Muskulatur zurück. Da diese Enzyme hydrolytische Eigenschaften haben und die Strukturbestandteile der Muskulatur zerstören, glauben die Verfasser, dass sie die eigentliche Ursache für die Ausbildung der Muskeldystrophie sind. Der biochemische Ablauf der Erkrankung ließe sich dann etwa so beschreiben: Zerstörung der Zellmembranen durch Lipidperoxydation, nachfolgende Einwanderung von Phagozyten mit ihrem hohen Anteil an lysosomalen Enzymen, die zur Hydrolyse der Muskelfasern und letztlich zur Muskeldystrophie führt.

Dieselben Autoren stellten darüber hinaus Beziehungen zwischen der lysosomalen Enzymaktivität, der

Höhe der Kreatin-, Allantoin- und Aminosäuren-ausscheidung im Urin, sowie der Gewebspathologie in Abhängigkeit von der Zeitdauer fest, während der die Kaninchen mit der Mangeldiät gefüttert wurden.

Kürzlich konnten ROUBAL und TAPPEL (1966) zeigen, dass im Körper durch die Peroxydation von Lipiden Proteine denaturiert und Aminosäuren zerstört werden.

Interessant ist die Frage, inwieweit die Tocopherole in ihrer Eigenschaft als Antioxydantien im Organismus durch andere Antioxydantien ersetzt werden können. Man kennt heute eine ganze Reihe synthetisch hergestellter und natürlich vorkommender Verbindungen, die einen teilweisen Schutz gegen bestimmte Vitamin-E-Mangelerkrankungen geben. Die Tatsache, dass ein fettlösliches Vitamin in seiner Wirkung durch einen wasserlöslichen reversiblen Wasserstoffakzeptor, wie zum Beispiel Methylenblau, ersetzt werden kann, führte MARKEES (1954) zu der Ansicht, alle Vitamin-E-Mangelerkrankungen mit der Redoxwirkung des Vitamins E im Stoffwechsel erklären zu können. Andere antioxydantisch wirksame Substanzen sind Nordihydroguajaretinsäure (NDGA), Diphenyl-p-phenylendiamin (DPPD) und natürlich vorkommende Stoffe, wie Ascorbinsäure, Cystein und andere. Die Wirkung dieser Verbindungen ist jedoch verschieden, und in der Literatur finden sich widersprüchliche Meinungen. Beim Huhn wirken sie gegen die exsudative Diathese und Encephalomalacie, verhindern die Peroxydbildung im Fettgewebe und fördern die Speicherung von Vitamin A in der Leber (DAM et al., 1951, 1952). Mit einem Gehalt von 0,0125 % DPPD in der Ration kann-

ten SINGSEN und MITARB. (1955) die Encephalomalacie beim Huhn verhindern. SCOTT und MITARB. (1955) erzielten jedoch mit verschiedenen Antioxydantien in einer absolut Vitamin-E-freien Diät keinen Schutz gegen die exsudative Diathese beim Huhn.

Bei der Ratte wirken einige synthetisch hergestellte Antioxydantien gegen die Herabsetzung der Hämolyseresistenz der Erythrozyten (CHRISTENSEN und DAM, 1951), die Verfärbung des Körperfettes (AAES-JØRGENSEN et al., 1951), Lebernekrosen (DAM und GRANADOS, 1951) und Muskeldystrophien, letzteres auch bei Kaninchen (MOORE et al., 1954; DRAPER und CSALLANY, 1958).

Es kann noch nicht entschieden werden, ob diesen synthetisch hergestellten und natürlich vorkommenden Antioxydantien eine über die antioxydantische Wirkung hinausgehende spezifische Funktion zukommt. Es wurde die Möglichkeit diskutiert, dass Spuren von Vitamin E im Körper oder in der Nahrung durch sie geschützt werden, so dass sie nur eine scheinbare spezifische Wirkung entfalten (STEPP et al., 1957; MARKEES, 1953).

Neueste Untersuchungen von BUNYAN et al. (1968) scheinen der Theorie von TAPPEL (1962) bezüglich der Beziehungen zwischen Lipidperoxydation und Vitamin E in vivo zu widersprechen. Die Autoren kamen zu dem Ergebnis, dass bei Verabfolgung ungesättigter Fettsäuren in niedriger Konzentration über lange und in höherer Konzentration über kurze Zeit kein Anstieg von Peroxyden im Fettgewebe festzustellen ist, wenn die Tiere an Vitamin E depletiert waren und kein Vitamin E über das Futter verabreicht wurde. Sie vermuten, dass die Peroxydbildung bereits im Darm stattfindet, und dass bis zu einer gewissen

maximalen Konzentration von Peroxyden im Darminhalt ihre Resorption verhindert wird. Erst wenn diese maximale Konzentration überschritten wird, was zum Beispiel durch Verabfolgung hoher Dosen von peroxydierten Fettsäuren oder ungesättigten Fettsäuren über längere Zeit erreicht werden kann, kommt es zu einem Anstieg von Peroxyden im Fettgewebe. Das Vitamin E soll nach Meinung der Autoren seine Wirkung beim Resorptionsmechanismus der Peroxyde im Darm entfalten, eine gegenseitige Beeinflussung zwischen Vitamin E und ungesättigten Fettsäuren im Fettgewebe findet nicht statt.

Beziehung zwischen Vitamin E und Enzymen

Immer wieder wird in der Literatur von Arbeiten berichtet, die dem Vitamin E eine bedeutende Rolle bei enzymatischen Reaktionen verschiedenster Art zuschreiben. Hauptsächlich SCHWARZ (1958, 1961 a,b, 1962 b) beschäftigt sich schon seit vielen Jahren mit diesen Problemen. Wir verdanken diesem Forscher eine Reihe von Untersuchungsergebnissen, die eine spezifische Wirkung der Tocopherole neben ihrer Eigenschaft, als Antioxydantien zu wirken, wahrscheinlich erscheinen lassen.

Die Untersuchungen hierüber erstrecken sich im wesentlichen auf den verringerten Sauerstoffverbrauch von Geweben E-avitaminotischer Tiere. Danach sollen die Tocopherole und ähnliche Verbindungen einen Atmungsabfall verhindern, indem sie wahrscheinlich die oxydationsempfindlichen Stellen (zum Beispiel Sulfhydrylgruppen) von Enzymen, die an der Atmung beteiligt sind, schützen. Zum Beispiel wurde im α -Ketoglutarat-Dehydrogenase-System die Lipoyldehydrogenase als ein möglicher Angriffs-

punkt für Vitamin E identifiziert (zit. n. SCHWARZ, 1962 a). Der verminderte Sauerstoffverbrauch wird durch die Unfähigkeit der Gewebe, unter bestimmten Umständen und Bedingungen die Atmungsaktivität in vitro aufrechtzuerhalten, verursacht. Als gutes Objekt eignet sich Lebergewebe von Ratten, deren Lebern sich in der latenten Phase der diätetischen nekrotischen Degeneration befinden. Leberschnitte zum Beispiel von Kontrolltieren verbrauchen noch nach vier bis sechs Stunden dieselbe Menge Sauerstoff wie zu Beginn des Versuches, während Leberschnitte von Vitamin-E-Mangeltieren nach 60 bis 90 Minuten nur noch etwa 20 % des anfänglichen Sauerstoffverbrauches aufweisen (SCHWARZ, 1962 a). In Leberhomogenaten verhindert auch die direkte Zugabe von Tocopherol oder anderer wirksamer Substanzen, wie Menadion, DPPD oder die von SIMON et al. (1956 b) gefundenen Metaboliten des Tocopherols, einen Abfall des Sauerstoffverbrauches (CORWIN und SCHWARZ, 1960 a, b).

In vergleichenden Untersuchungen mit Faktor 3 stellten SCHWARZ und MITARB. (1961) fest, dass der Faktor 3 in Leberhomogenaten keinen Schutz gegen den Atmungsabfall gewährte, gleichgültig ob diese Substanz vorher in vitro zugesetzt oder intravenös oder über die Diät verabfolgt wurde. Vitamin E kann also in dieser Hinsicht durch Faktor 3 nicht ersetzt werden. Die Befunde zeigen aber auch, dass die Tocopherole nicht einfach Antioxydantien sind, sondern dass sie in komplizierte Stoffwechselvorgänge eingreifen (SCHWARZ, 1962 a).

Eine Reihe von Autoren hat über den Einfluß eines Vitamin-E-Mangels im Futter auf oxydative Enzymsysteme berichtet. Es wird die Ansicht vertreten,

dass Vitamin E wahrscheinlich ein Bestandteil der NAD- und Succinat-cytochrom c-Reduktasen ist (VASINGTON et al., 1960). CORWIN und SCHWARZ (1960 a) verhinderten in vitro einen Abfall der α -Ketoglutarat- und Succinatoxydation in Rattenleberhomogenaten von Vitamin-E-Mangeltieren, indem sie die von SIMON et al., (1956 b) gefundenen Stoffwechselprodukte des Vitamins E, Menadion oder DPPD zusetzten. Sie erörtern die Möglichkeit, dass diese Substanzen in vitro als Elektronenüberträger fungieren, indem sie wahrscheinlich eine Lücke im Elektronentransport überbrücken, die als Folge eines Vitamin-E-Mangels entstanden ist.

Interessant sind die Untersuchungen von DINNING (1962) über den Nucleinsäurestoffwechsel bei Vitamin-E-Mangel, der annimmt, dass das Vitamin E eine Kontrolle über den Grad der Biosynthese von DNS ausübt. In der zusammenfassenden Arbeit von VASINGTON et al. (1960) über die Biochemie der Tocopherole wird unter anderem mitgeteilt, dass verschiedene Muskelpräparate, die mit Isooktan extrahiert worden waren, eine verminderte NAD- und Succinat-cytochrom c-Reduktase-Aktivität aufwiesen. Die ursprüngliche Aktivität wurde nach Zugabe von Tocopherol wiederhergestellt. Möglicherweise ist das Vitamin E bei der Elektronenübertragung zwischen Cytochrom b und c beteiligt. Antimycin A, ein Antibioticum, bewirkt eine Blockierung dieser Elektronenübertragung. Durch Vitamin E kann diese Blockierung rückgängig gemacht werden. Allem Anschein nach handelt es sich um eine Konkurrenz zwischen Antimycin A und α -Tocopherol. Es werden zwei Möglichkeiten der Wirkungsweise der Tocopherole diskutiert: 1. Die Tocopherole wirken als Elek-

tronenüberträger, wobei sie Oxydations- und Reduktionsvorgängen während der Cytochrom c-Reduktase-Aktivität unterliegen. 2. Sie sind eine Kittsubstanz, möglicherweise eingebaut in eine Lipidhülle, die das Cytochrom b und c in einer für den Elektronentransport optimalen Entfernung zueinander zusammenhält. Beweise dafür gibt es aber noch nicht.

Ob die Tocopherole auch an der oxydativen Phosphorylierung teilnehmen, ist noch ungeklärt. Ein entsprechendes phosphoryliertes Zwischenprodukt, wie es sich SLATER (1960) und BOYER (1960) vorstellen, wurde noch nicht nachgewiesen.

C. Eigene Untersuchungen

I. Versuchsziel, Tiermaterial und Methoden

1. Versuchsziel

In mehreren Versuchsreihen sollte auf Grund von Fütterungsversuchen

- a. eine Vitamin-E-Mangeldiät ermittelt werden, die aus weitgehend genau definierten Einzelkomponenten zusammengesetzt ist und reproduzierbar Vitamin-E-Mangelsymptome bei wachsenden Ratten erzeugt,
- b. der Vitamin-E-Bedarf junger, männlicher Ratten in Abhängigkeit des Fettgehaltes und des Fetttypes in der Diät ermittelt werden. Dabei wurde von der Annahme ausgegangen, dass der Vitamin-E-Bedarf steigt, je mehr ungesättigte Fettsäuren in der Diät enthalten sind.

Vitamin E in Form von dl - α -Tocopherylacetat sollte die einzige Vitamin-E-Quelle im Futter der Tiere sein. Die Grunddiät sollte in allen Versuchen gleichartig zusammengesetzt sein, lediglich die Fettkomponente und der Vitamin-E-Gehalt sollten variiert werden (Austausch von Fett gegen Reisstärke).

2. Tiermaterial und Haltung der Tiere

Für die Versuche wurden abgesetzte männliche Sprague-Dawley-Ratten im Alter von 21 Tagen verwendet (Züchter: Firma Reupohl in Lage (Lippe)). Die Haltung der Tiere erfolgte einzeln in Makrolonkäfigen vom Typ II (Hersteller: PAG Presswerk

AG, Essen). Als Einstreu kam Weichholzgranulat der Firma altromin GmbH, Lage (Lippe) zur Verwendung. Die Tiere erhielten Futter und Wasser ad libitum. Die Diäten wurden in besonders konstruierten Behältern verabreicht, die ein Verstreuern und eine Verunreinigung des Futters durch die Tiere weitgehend verhinderten. Die Ratten waren einem 12-stündigen Beleuchtungsrhythmus ausgesetzt. Im Stall herrschte kontinuierlich eine Temperatur von $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$ und eine Luftfeuchtigkeit von 50 bis 60 %. Bei der Gruppenaufteilung wurde darauf geachtet, dass alle Gruppen gleichen Umweltsbedingungen ausgesetzt waren.

3. Versuchskriterien

Folgende Kriterien wurden zur Beurteilung eines Vitamin-E-Mangels herangezogen:

1. Gewichtszunahmen während einer dreiwöchigen Wachstumsperiode.
2. Futterverwertung, definiert als Quotient aus Futteraufnahme durch Gewichtszunahme.
3. Resistenz der Erythrozyten gegenüber Wasserstoffsuperoxyd (Hämolysetest, vergl. S.32).

zu 1. und 2.: Die Gewichtskontrolle der Tiere erfolgte einmal wöchentlich. Gleichzeitig wurde der Futterverbrauch bestimmt und aus beiden Ergebnissen die Futterverwertung errechnet. Für jede Gruppe wurde der Durchschnitt der täglichen Zunahme und der Futterverwertung ausgerechnet.

zu 3.: Da genau definierte Diäten verfüttert

und genetisch weitgehend übereinstimmendes Tiermaterial verwendet wurde, war der Hämolysetest zur Feststellung des Grades einer Vitamin-E-Verarmung gut geeignet.

4. Hämolysetest

Prinzip: Erythrozyten von Ratten, die sich im Vitamin-E-Mangel befinden, zeigen gegenüber hämolytischen Einflüssen eine verminderte Resistenz. Erythrozytensuspensionen werden mit einer verdünnten Wasserstoffsüberoxydlösung inkubiert, die hierbei resistent verbleibenden Erythrozyten abzentrifugiert und in der überstehenden Flüssigkeit der Hämolysegrad ermittelt.

Reagenzien: (BRÜGGEMANN et al., 1963)

1. Phosphatpuffer, pH = 7,4
2. physiologische Kochsalzlösung
3. Salzphosphatlösung. Phosphatpuffer und physiologische Kochsalzlösung werden zu gleichen Teilen gemischt.
4. Wasserstoffsüberoxydlösung, enthält 20 mcg H_2O_2 p.a. pro ml Salzphosphatlösung.

Zur Erzielung reproduzierbarer Ergebnisse ist es nötig, den Gehalt vor jedem Test neu einzustellen. Daher muß von einer Stammlösung der H_2O_2 -Gehalt mittels der Jodometrie vor jedem Test untersucht und die Endverdünnung entsprechend neu eingestellt werden.

Durchführung: Mit einer angeschliffenen Glaskapillare wurde den Ratten unter leichter Äthernarkose Blut retrobulär entnommen (Technik s. JUNG, 1962;

SCHERMER, 1958). 0,02 ml wurden mittels einer Blutpipette in 5 ml Salzphosphatlösung in einem 20 ml Zentrifugenglas suspendiert und durch Einblasen von Expirationsluft über die Pipette intensiv durchmischt. Nach dem Zentrifugieren dieser Suspension (10 Minuten bei 2000 U/min) wurde die überstehende Flüssigkeit abgesaugt und der Bodensatz erneut in 5 ml Salzphosphatlösung suspendiert. Von dieser Erythrozytensuspension wurde in vier Zentrifugenläser je 1 ml pipettiert. Nach Zugabe von 1 ml Wasserstoffsuperoxydlösung zu den Gläschen 1, 2 und 3 und 1 ml Salzphosphatlösung zu Gläschen 4, sowie anschließend vorsichtigem Umschwenken, kamen diese in den auf 37°C vorgewärmten Brutschrank, wo sie eine Stunde verblieben. Anschließend standen die Proben zwei Stunden lang bei Zimmertemperatur. Danach wurde in die Gläschen 1, 2 und 4 je 5 ml Salzphosphatlösung, in Gläschen 3 5 ml aqua bidest. pipettiert. Nach vorsichtiger Durchmischung wurden sämtliche Proben bei 2000 U/min 10 Minuten lang zentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit wurde abdekantiert und bei 405 nm, Schichtdicke 1 cm im Eppendorf-Photometer gegen reine Salzphosphatlösung kolorimetriert. Der Hämolysegrad errechnete sich nach folgender Formel:

$$\% \text{ Hämolyse} = \text{Hämolysewert von } \frac{\frac{\text{Glas 1} + \text{Glas 2}}{2} - \text{Glas 4}}{\text{Glas 3} - \text{Glas 4}} \times 100$$

5. Herstellung der Fettsäuremethylester

Reagenzien:

Methanol, technisch

konzentrierte Schwefelsäure
Petroläther, Siedebereich 40°C
Stickstoff, gereinigt
Natriumsulfat, wasserfrei

Durchführung: 100 g freie Fettsäuren (aus dem Handel bezogen) wurden in der 12-fachen Menge 5%iger methanolischer Schwefelsäure zwei Stunden am Rückflußkühler zum Sieden erhitzt. Bei der Veresterung von Linolsäure wurde gereinigter Stickstoff durch das System geleitet. Nach dem Abkühlen wurde die Lösung in einen Scheidetrichter übergeführt, 1/20 des Volumens Wasser zugesetzt und die Methylester durch dreimaliges Ausschütteln mit Petroläther extrahiert. Die vereinigten Petrolätherauszüge wurden mit Wasser neutral gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Abdestillieren des Petroläthers geschah im Rotationsverdampfer unter Stickstoff.

Die Kontrolle der stattgefunden Veresterung erfolgte durch Bestimmung der Säurezahl von jeder Probe. Die Ester wurden in Glasflaschen unter Stickstoff bei 4°C aufbewahrt.

6. Ermittlung "Vitamin-E-positiver" Substanzen

Zur Prüfung, ob die verwendeten Fettanteile frei waren von "Vitamin^E-positiven" Substanzen (zum Beispiel Antioxydantien außer Vitamin E) wurde die Reaktion nach EMMERIE und ENGEL (1938) durchgeführt.

Prinzip: Die Tocopherole werden durch alkalische Verseifung, Ätherextraktion und anschließende Chromatographie an Aluminiumoxyd aus dem Untersuchungsmaterial abgetrennt. Die quantitative Bestimmung

der Tocopherole erfolgt mit Eisen(III)-chlorid und α - α' -Dipyridyl. Die Extinktion des entstehenden Farbkomplexes wird bei einer Wellenlänge von 546 nm im Eppendorf-Photometer gemessen.

Reagenzien:

Äthanol p.a.

Petroläther, 30 - 50°C Siedebereich

Diäthyläther DAB 6, peroxydfrei, wasserfrei

50%ige wässrige Kalilauge

10%ige äthanolische Hydrochinonlösung

1%ige Phenolphthaleinlösung

Aluminiumoxyd, standardisiert nach BROCKMANN, partiell inaktiviert (91 g Al_2O_3 werden mit 9 ml Wasser versetzt, kräftig geschüttelt und über Nacht in verschlossenen, braunen Schliffflaschen aufbewahrt)

Eluiergemisch (Mischung aus 92 ml Petroläther und 8 ml Diäthyläther)

Reagens nach EMMERLE und ENGEL, Gemisch aus

2 Teilen 0,2%iger FeCl_3 -Lösung in Äthanol

2 Teilen 0,5%iger α - α' -Dipyridyl-Lösung in Äthanol

11 Teilen Äthanol

10 Teilen Benzol

Durchführung: 10 g der zu untersuchenden Fettprobe wurden in ein 100 ml Birnenkölbchen eingewogen. Nach Zugabe von 25 ml Äthanol, 1 ml Hydrochinonlösung und 10 ml Petroläther wurde das Kölbchen in ein Wasserbad von 65°C gebracht und unter Rückflußkühlung der Petroläther zum Sieden erwärmt. Danach setzte man durch den Kugelmühler soviel 50%ige KOH-Lösung hinzu, dass die Verseifungslösung 10 % KOH enthielt und verseifte nun die Probe 20 Minuten lang unter häufigem Umschwenken des Kölb-

chens. Nach beendeter Verseifung wurde der Rückflußkühler mit 5 ml Äthanol nachgespült, das Kölbchen abgenommen und abgekühlt. Zur Extraktion der "Vitamin-E-positiven" Substanz wurde die Verseifungslösung nach Zugabe von 5 ml H_2O mit insgesamt 400 ml Diäthyläther, aufgeteilt in Portionen zu je 50 ml, ausgeschüttelt. Das Auswaschen der vereinigten Ätherextrakte erfolgte im Scheidetrichter mit aqua bidest. solange, bis das Waschwasser neutral reagierte (Probe mit Phenolphthalein-Lösung).

Der Ätherextrakt wurde nach Überführung in einen 500 ml Rundkolben am Rotationsverdampfer auf 30 bis 40 ml eingeeengt. Diese Menge versetzte man in einem 100 ml Scheidetrichter mit der gleichen Menge Petroläther und schüttelte um. Dabei wurden die letzten Feuchtigkeitsspuren abgetrennt. Nach Überführung des Extraktes in ein 100 ml Birnenkölbchen wurden die Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgedampft. Der im Kölbchen verbliebene Extrakt wurde nun für die Chromatographie in Petroläther aufgenommen.

Nach Auftragen des Probenextraktes auf eine mit Aluminiumoxyd gefüllte Säule (Durchmesser 1 cm, Höhe der Säule 20 cm) wurden die Tocopherole mit Eluiergemisch (60 ml) eluiert. Nach Eindampfen des Eluates am Rotationsverdampfer zur Trockene wurde der Rückstand mit 5 ml Äthanol aufgenommen.

Diese äthanolische Untersuchungslösung wurde mit 5 ml Reagens nach EMMERIE und ENGEL versetzt. Die entstehende Rotfärbung gelangte zwei Minuten nach Reagenszugabe bei einer Wellenlänge von 546 nm im Eppendorf-Photometer gegen eine Blindlösung von 5 ml reinem Äthanol und 5 ml Reagens nach EMMERIE

und ENGEL zur Messung. Der Gehalt an Tocopherolen konnte anhand der Extinktion aus einer Eichkurve abgelesen werden. Die Aufstellung der Eichkurve erfolgte mit reinem dl- α -Tocopherol der Firma Deutsche Hoffmann-La Roche AG, Grenzach.

II. Vorversuche

Zur Klärung der beim Versuchsziel (S. 30) erörterten Fragestellungen war es erforderlich, einige Vorversuche durchzuführen.

1. Zusammensetzung der Vitamin-E-Mangeldiät

Ausgehend von einer halbsynthetischen Diät für andere Versuchszwecke (DREPPER und UDES, 1967) wurde geprüft, ob eine Diät mit Reisstärke als einziger Kohlenhydratkomponente im Vergleich zu einer "optimalen" Diät aus natürlichen Komponenten ausreichende Gewichtszunahmen erbringt.

Diese Versuche führten zu folgender Zusammensetzung der Ausgangsdiät:

Kasein, mit heißem Äthanol extrahiert, vitaminfrei	22 %
Reisstärke DAB 6	64 %
Sojaöl	2 %
Cellulosepulver	4 %
Mineralstoffmischung ⁺	6 %
Vitaminvormischung ⁺⁺	2 %
	100 %

⁺Mineralstoffmischung, Angaben in 60 g (= 1000 g Diät):

CaCO₃

14 g

$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	14 g
$\text{K}_2\text{HPO}_4(\text{sicc.})$	10 g
NaCl	8 g
$\text{Na}_2\text{HPO}_4(\text{sicc.})$	7 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	5 g
$\text{Fe(II)-Gluconat} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1480 mg
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	450 mg
ZnCO_3	40 mg
KJ	0,5 mg
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,5 mg
NaF	10 mg
$\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$	20 mg
	60.000 g

++Vitaminvormischung. Angaben in 20 g (= 1000 g Diät):

DL-Methionin	1200 mg
Vitamin A	15000 I.E.
Vitamin D ₃	500 I.E.
Vitamin E	150 mg
Vitamin K ₃	10 mg
Vitamin B ₁ . HCl	20 mg
Vitamin B ₂	20 mg
Vitamin B ₆ . HCl	15 mg
Vitamin B ₁₂	30 mcg
Pantothensäure, Ca-Salz	50 mg
Nikotinsäure	50 mg
Cholinchlorid	1000 mg
Folsäure	10 mg
Biotin	200 mcg
Inosit	100 mg
p-Aminobenzoesäure	100 mg
Vitamin C	20 mg
Reisstärke ad	20.000 g

Der Firma Deutsche Hoffmann-La Roche AG sei für die Überlassung der Vitamine herzlich gedankt.

2. Vitamin-E-Bedarfsermittlung

Um den Gehalt an ungesättigten Fettsäuren im Fettanteil der zu prüfenden Diäten exakt einstellen zu können, und um den Fettanteil absolut Vitamin-E-frei halten zu können, sollte mit reinen Fettsäuren gearbeitet werden.

Zur Vereinfachung der Beschreibung des jeweiligen Gehaltes an ungesättigten Fettsäuren in der Diät wurde der Begriff "Diätjodzahl" eingeführt. Sie ist folgendermaßen definiert:

Diätjodzahl = Jodzahl des Fettes x Fettgehalt der Diät

Palmitinsäure, Myristinsäure und Laurinsäure als gesättigte Fettsäuren haben eine Jodzahl, die praktisch gleich Null ist. Linolsäure dagegen hat eine Jodzahl von 175. Verändert man die prozentuale Fettzusammensetzung in der Diät, indem man gesättigte und ungesättigte Fettsäuren miteinander vermischt und außerdem in verschiedenen hohen Konzentrationen der Grunddiät beimischt, so läßt sich hierdurch jede gewünschte Diätjodzahl zwischen Null und mehreren Tausend erzeugen.

In einem Vorversuch sollte die Verträglichkeit der drei genannten gesättigten Fettsäuren geprüft werden. Fünf Rattengruppen erhielten die Ausgangsdiät (vergl. S. 37) mit folgenden Änderungen im Fettanteil bzw. in der Vitamin-E-Ergänzung:

Tabelle 1

Gruppe	Fettanteil in der Ausgangsdiät	Vitamin E mg/1000 g Diät
1	2 % Sojaöl	150
2	5 % gesättigte Fetts. ⁺	-
3	10 % gesättigte Fetts.	-
4	20 % gesättigte Fetts.	-
5	-	10
6	10 % gesättigte Fetts.	10

⁺Gemisch aus gesättigten Fettsäuren : je 1/3 Palmitin-, Myristin- und Laurinsäure, techn. Qualität. Hersteller: Firma Fluka, Buchs, Schweiz.

Bereits nach fünf Tagen trat eine hohe Mortalität in den Gruppen 2 bis 4 und 6 auf. Auch bei Verwendung biochemisch reiner gesättigter Fettsäuren und bei Versuchsgruppen, bei denen in einem weiteren Versuch 50 % der gesättigten Fettsäuren durch Linsäure ersetzt worden waren, wurden gleich hohe Verluste festgestellt.

Die pathologische und pathologisch-histologische Untersuchung von vier verendeten Ratten ergab folgenden übereinstimmenden Befund:⁺⁺

1. Hämorrhagisch nekrotisierende Gastroenteritis
2. Ödematöse Verquellung des Stützgerüsts und der großen Parenchyme
3. Interstitielles Ödem der Herzmuskulatur
4. Geringgradiges Hirnödem

⁺⁺Die Untersuchung erfolgte am Institut für Veterinär-Pathologie der Freien Universität Berlin, bei dessen Direktor, Herrn Prof. Dr. Renk ich mich herzlich bedanken möchte.

Ein weiterer Vorversuch sollte klären, ob durch Zusatz von Glycerin und/oder Vitamin E die Mortali-

tät gesenkt werden kann. Sieben Rattengruppen erhielten die Ausgangsdiät (vergl. S. 37) mit folgenden Änderungen im Fettanteil oder in der Vitamin-E-Ergänzung:

Tabelle 2

Gruppe	Fettanteil in der Ausgangsdiät	Vitamin E mg/1000 g Diät
1	10 % Sojaöl	100
2	10 % gesättigte Fetts.	-
3	10 % gesättigte Fetts.	100
4	10 % gesättigte Fetts. + 1,35% Glycerin	-
5	10 % Linolsäure	-
6	10 % Linolsäure	100
7	10 % Linolsäure + 1,1% Gly- cerin	-

Die Mortalität in den Gruppen 2 bis 7 entsprach derjenigen der vorhergehenden Versuche, die Gewichtszunahmen der überlebenden Tiere dieser Gruppen betrugen nur 1 bis 2 g/Tier und Tag.

Diese Vorversuche zeigten, dass freie Fettsäuren nicht in den eigentlichen Versuchen eingesetzt werden konnten. Auf der Suche nach anderen geeigneten Fetten - natürliche Fette schieden aus wegen ihres Tocopherolgehaltes - erschienen die Methyl-ester der Fettsäuren geeignet, zumal in der Literatur wiederholt der Einsatz von Fettsäuremethyl-estern beschrieben worden war (WISS und WEBER, 1965; WEBER et al., 1964; GREEN et al., 1967). Da die Methylester der Palmitin- und Linolsäure im Handel nur schwer erhältlich waren, mußten sie selbst hergestellt werden (vergl. S. 33).

Vier Gruppen à 10 Ratten erhielten die Grunddiät, in der nur der Fettanteil geändert wurde:

Tabelle 3

Gruppe	Fettanteil in der Grunddiät	Durchschn. Gewichtszunahme in g/Tier/Tag
1	5 % PME	4,2
2	10 % PME	3,5
3	5 % LME	2,8
4	10 % LME	1,1

PME = Palmitinsäuremethylester

LME = Linolsäuremethylester

Bei Verfütterung von 5 und 10 % Fettsäuremethylester (Palmitinsäure- und Linolsäuremethylester) als Fettanteil in der Ausgangsdiät trat nur geringgradige Mortalität auf. Die Gewichtszunahmen, insbesondere bei einem LME-Gehalt von 10 % im Futter, waren allerdings gering. Da als Hauptkriterium für die Ermittlung des Vitamin-E-Bedarfs jedoch der Hämolysetest verwendet werden sollte, erschienen die beiden Ester als Fettkomponenten für die nachfolgenden Versuche geeignet.

III Hauptversuche

1. Vitamin-E-Mangel (I. Versuch)

In diesem Versuch sollte an jungen Sprague-Dawley-Ratten bei Verabreichung von Vitamin-E-Mangeldiäten Wachstum, Futteraufnahme, Futterverwertung und Ausbildung eines Vitamin-E-Mangels mit Hilfe des Hämolysetestes während einer dreiwöchigen Periode untersucht werden.

Nach Abschluß des Wachstumsversuches sollten die Tiere der Vitamin-E-Mangelgruppe (2) die Diät der ausreichend mit Vitamin E versorgten Gruppe (1) erhalten. Dadurch wollte man feststellen, in welcher Zeit die Hämolyseresistenz gegenüber Wasserstoff-superoxyd wiederhergestellt wird.

Die Tiere der Kontrollgruppe (1) sollten im Anschluß an den Wachstumsversuch auf die Diät gesetzt werden, die am ausgeprägtesten eine verminderte Hämolyseresistenz erzeugte. Der Zweck dieser Futterumstellung sollte sein, die Zeitdauer bis zum Auftreten klinischer Vitamin-E-Mangelsymptome (hier Muskeldystrophie) zu verfolgen.

Versuchsanstellung und Ergebnisse des I. Versuches:
(vergl. auch Tabelle 9, S. 62)

Tabelle 4

2% Fettanteil in der Ausgangsdiät	DJZ ⁺	Vit. E mg/kg Diät	Gewichtszu- nahmen in g/Tier/Tag	Hämolyse ⁺⁺ nach 5 Ta- gen in %
Sojaöl	250	150	4,6	2
Sojaöl	250	-	4,5	75
Fetts.-ME- Gemisch ⁺⁺⁺	261	-	4,2	77
Palmin ⁺⁺⁺⁺	15	-	4,2	86
Schweine- schmalz ⁺⁺⁺⁺	104	-	4,7	85

⁺ DJZ = Diätjodzahl, vergl. S. 39

⁺⁺ gemessen im Hämolysetest, vergl. S. 32

⁺⁺⁺ Fettsäuremethylestergemisch, freundlicherweise überlassen von der Firma Henkel & Cie. GmbH, Düsseldorf. Zusammensetzung laut Angabe der Herstellerfirma: 12,5 % Palmitinsäure; 4 % Stearinsäure; 23,5 % Ölsäure; 54,0 % Linolsäure; 6,0 % Linolen- und Eicosensäure. Säurezahl 0,8; Verseifungszahl 199,2; Jodzahl 130,5.

⁺⁺⁺⁺ Aus dem Lebensmittelhandel bezogen

Die Verabfolgung der Kontrolldiät der Gruppe 1 an die Tiere der Gruppe 2 nach Abschluß des Wachstumsversuches ergab bereits nach 24 Stunden die Wiederherstellung der vollen Resistenz der Erythrozyten gegenüber Wasserstoffsuperoxyd im Hämolyse-test (vergl. S. 32).

Bei den Tieren der Gruppe 1 (Kontrollgruppe), die nach Beendigung der dreiwöchigen Wachstumsperiode die Diät der Gruppe 5 erhielten, zeigte sich erst nach drei Monaten eine durchschnittliche Hämolyse von 50 %. Neun Monate nach Verabfolgung der Diät der Gruppe 5 an die vormalige Gruppe 1 machten sich die ersten Anzeichen einer beginnenden Muskeldystrophie bemerkbar. Die Tiere wurden nach insgesamt 10 Monaten getötet und pathologisch sowie pathologisch-histologisch untersucht.

Der Befund der pathologischen Untersuchung einer der eingesandten Ratten lautete:⁺

"Bei der eingesandten Ratte fiel eine geringe Bemuskelung vor allem der Hinterextremitäten auf. Die histologische Untersuchung zeigte in den unterschiedlich dicken Muskelfasern überwiegend das Bild einer Homogenisierung - Hyalinisierung - des Sarkoplasmas, wobei in wechselnden Graden eine Vermehrung der Kerne im Sarkolemm vorlag. Daneben trat in einzelnen Muskelfasern eine Vakuolenbildung auf und von anderen Muskelfasern war nur noch das Sarkolemm erhalten. Dabei konnten keine entzündlichen Veränderungen festgestellt werden. Diagnose: Hyaline Muskeldegeneration."

⁺Herrn Prof. Dr. Renk, Direktor des Instituts für Veterinär-Pathologie, danke ich herzlich für die freundliche Genehmigung zur Wiedergabe des Befundes an dieser Stelle.

2. Vitamin-E-Bedarf (II. - IV. Versuch)

Ziel dieser Versuche war es, den Vitamin-E-Bedarf junger, wachsender männlicher Sprague-Dawley-Ratten in Abhängigkeit der jeweiligen Fettsäuremethylester-Zusammensetzung bei 2 %, 6 % und 10 % Gesamtanteil in der Ausgangsdiät zu bestimmen.

Tabelle 5

Versuchsanstellung und Ergebnisse der Versuche II - IV

(Vergl. auch Tabellen 10 - 12 S. 63 - S. 65)

Gruppe	Zusammen- setzung des Retentions- PME	Zusammen- setzung des Retentions- PME	Vit. E mg/kg Diet	Versuch II			Versuch III			Versuch IV		
				PME Gew.-zun. g/Tier/Tag	Häm.n. 21 Tg. +	DJZ	PME + LME = 6%	Häm.n. 21 Tg. +	DJZ	PME + LME = 10%	Häm.n. 21 Tg. +	DJZ
1			0	4,7	89		4,6	40		4,0	45	
2			20	4,2	1		4,5	7		3,8	10	
3	100	-	40	3,7	0	1,5	4,6	2	2,5	3,9	2	
4			60	4,1	0		5,0	2		3,6	0	
5			0	3,9	97		4,9	47		4,1	71	
6			20	3,7	0		4,7	5		4,6	22	
7	90	10	40	3,9	0	98	4,8	3	113	4,3	3	
8			60	3,9	0		4,7	0		4,8	1	
9			0	4,0	87		4,5	36		4,0	79	
10			20	4,0	1		4,8	5		4,5	51	
11	75	25	40	4,6	0	243	4,5	0	405	4,2	3	
12			60	3,9	0		5,0	0		4,8	1	
13			0	4,2	77		3,7	39		2,5	73	
14			20	3,8	0		4,1	4		3,0	17	
15	50	50	40	3,8	1	484	3,9	1	806	2,1	1	
16			60	3,6	2		3,9	0		2,2	1	
17			0	3,5	61		-	-		-	-	
18			20	3,6	0		-	-		-	-	
19	-	100	40	3,4	0	966	-	-	1610	-	-	
20			60	3,7	0		-	-		-	-	
21			0	4,4	91		-	-		-	-	
22			20	4,0	0		-	-		-	-	
23	-	-	40	4,0	0	0	-	-	0	-	-	
24			60	4,2	0		-	-		-	-	
25	Sojabl		150	4,1	0	750	5,1	0	1250	4,9	0	

+ gemessen im Hämolysetest, vergl. S. 32

PME = Palmitinsäuremethylester

LME = Linolsäuremethylester

DJZ = Dichtedzahl, vergl. S. 39

3. Hämatokritwerte in den Diäten mit 6 % Fettanteil

Bereits bei der Blutentnahme fiel auf, dass sich bei den Tieren der Gruppen, die einen hohen Anteil an ungesättigten Fettsäuren mit der Diät bekamen, das Blut im Aussehen verändert hatte. Es wurden deshalb die Hämatokritwerte bei den verschiedenen Gruppen mit unterschiedlicher Zusammensetzung des Fettanteils in der Diät bestimmt.

Tabelle 6

Gruppe	Zusammensetzung des Fettanteils		Hämatokrit ⁺
	PME %	LME %	
1 - 4	100	-	46,1
5 - 8	90	10	46,8
9 - 12	75	25	37,0
13 - 16	50	50	33,8
17 - 20	-	100	26,4

⁺Jeder Wert ist das Mittel aus acht Bestimmungen, 10 Minuten zentrifugiert bei 3000 U/min. Der Vitamin-E-Gehalt in den Diäten wurde nicht berücksichtigt.

PME = Palmitinsäuremethylester; LME = Linolsäuremethylester

4. Ermittlung "Vitamin-E-positiver" Substanzen

Tabelle 7

Fettsäure bzw. deren Methylester	"Vitamin-E-positive" Substanz ⁺ mg/100 g
Linolsäure	1,9
Linols.-Methylester	4,9
Palmitinsäure	0
Palmitins.-Methylester	0

⁺gemessen mit der Reaktion nach EMMERIE und ENGEL, vergl. S. 34

IV. Besprechung der Ergebnisse

Die Ergebnisse des I. Versuches (Tab.4, S.43 u. 9,S.62) lassen erkennen, dass bei Verfütterung der ermittelten Vitamin-E-armen, halbsynthetischen Diät (S. 37) schon in sehr kurzer Zeit eine verminderte Hämolyseresistenz (Hämolysetest vergl. S. 32) auftritt. Die jeweilige Fettart (2 % im Futter) scheint dabei den Grad der Resistenzverminderung nur geringgradig, möglicherweise bedingt durch unterschiedliche Vitamin-E-Gehalte, beeinflusst zu haben.

Da schon wenige Stunden nach Verabreichung eines Vitamin-E-haltigen Futters an Vitamin-E-Mangelratten die Hämolyseresistenz wieder voll hergestellt ist, kann angenommen werden, dass die verminderte Hämolyseresistenz durch eine Vitamin-E-Verarmung der Erythrozyten bedingt wird. GREEN et al. (1967) kamen durch ihre Untersuchungen zu einer gleichartigen Aussage.

Die festgestellte Verminderung der Hämolyseresistenz um 50 % drei Monate und das Auftreten von Muskeldystrophie neun bis zehn Monate nach Beginn einer Vitamin-E-Mangelfütterung an ältere, vorher reichlich mit Vitamin E im Futter versorgte Ratten, weisen darauf hin, dass die Vitamin-E-Verarmung des Rattenorganismus sehr langsam erfolgt, und dass offenbar sehr geringe Vitamin-E-Mengen im Intermediärstoffwechsel für die Aufrechterhaltung physiologischer Funktionen ausreichen.

Insgesamt kann aus den Ergebnissen des Versuches I abgelesen werden, dass die verfütterte Vitamin-E-Mangeldiät gut geeignet ist, reproduzierbar Vitamin-E-Mangelsymptome bei wachsenden Ratten zu erzeugen (vergl. S. 44).

Aus den Versuchen II bis IV (Tab.5,S.46 u. 10-12,S.63-65)

geht hervor, dass der Vitamin-E-Bedarf im Futter offenbar nur geringgradig vom prozentualen Anteil ungesättigter Fettsäuren im Fett der Diäten abhängig ist: Bei steigenden Diätjodzahlen (vergl. S. 46) innerhalb jedes Versuches ergaben gleiche Vitamin-E-Gehalte im Futter kaum Differenzen in der Hämolyseresistenz, dagegen treten verminderte Gewichtszunahmen bei der Verfütterung von Diäten mit hoher Diätjodzahl auf.

Im Gegensatz dazu steigt der Vitamin-E-Bedarf im Futter mit steigendem Fettanteil unabhängig von dessen Zusammensetzung: Bei einem Fettgehalt von 2 % in der Diät verhinderten 20 mg Vitamin E (dl- α -Tocopherylacetat) pro kg Futter sicher eine Herabsetzung der Hämolyseresistenz, bei 10 % Fett in der Diät waren jedoch 40 mg Vitamin E pro kg Futter dafür erforderlich. In Versuch III zeichnete sich die gleiche Tendenz ab; die allgemein geringere Herabsetzung der Hämolyseresistenz bei diesem Versuch gegenüber den Versuchen II und IV könnte mit einer aus unbekannten Gründen verringerten Peroxydbildung und damit verringerten Vitamin-E-Zerstörung erklärt werden.

Die Feststellung, dass der Vitamin-E-Bedarf unabhängig vom prozentualen Anteil der ungesättigten Fettsäuren im Fett von Rattendiäten ist, steht im Gegensatz zu Veröffentlichungen von WEBER und WISS (1966). Diese Autoren ermittelten bei Verfütterung von 5 bzw. 10 % Linolsäuremethylestern an Ratten im Vitamin-E-freien Futter nach vorangegangener reichlicher oraler Versorgung mit Vitamin E einen Bedarf von 0,5 mg dl- α -Tocopherolacetat pro g mit dem Futter aufgenommene Linolsäuremethylester. In den eigenen Versuchen hätten die ermittelten Bedarfswerte noch höher liegen müssen, weil sowohl in der Diät bei der Lagerung als auch im Intestinum während der

Verdauungsvorgänge und bei der Resorption zusätzliche Interaktionen möglich waren, die einen vermehrten Vitamin-E-Verbrauch bedingten (WEBER et al., 1964).

Dass diese Unabhängigkeit des Vitamin-E-Bedarfs vom Anteil an ungesättigten Fettsäuren durch den ermittelten geringen Gehalt an "Vitamin-E-positiven" Substanzen im Linolsäuremethylesteranteil bedingt wird (vergl. Tab. 7 S. 47), ist sehr unwahrscheinlich. Bei einem Gehalt von 5 mg "Vitamin-E-positiver" Substanz/100 g Linolsäuremethylester sind bei einer Einmischung von 2 % (Gruppen 17 bis 20, Versuch II, s. Tab. 5 S. 46) nur 0,1 mg "Vitamin-E-positiver" Substanz in 100 g Diät enthalten. Eine Wirkung so geringer Mengen (10 mcg bei 10 g Futteraufnahme/Tier/Tag) auf die Hämolyseresistenz kann nicht angenommen werden.

Die in den eigenen Versuchen ermittelten Ergebnisse werden gestützt durch kürzlich veröffentlichte Arbeiten von GREEN et al. (1967), DIPLOCK et al. (1967) und BUNYAN et al. (1967, 1968). Übereinstimmend stellen diese Autoren fest, dass im Intermediärstoffwechsel keine Abhängigkeit zwischen dem Stoffwechsel ungesättigter Fettsäuren und der Vitamin-E-Versorgung des Organismus bei Ratten besteht.

Unabhängig vom Mischungsverhältnis der Palmitinsäure- und Linolsäuremethylester ist mit steigendem Fettanteil in der Grunddiät im Vergleich zur jeweiligen Kontrolldiät (Sojaöl) eine Verminderung der Gewichtszunahmen feststellbar (Tab. 8 S. 51, senkrechte Kolonnen). Hohe Anteile ungesättigter Fettsäuren in der Diät bewirken eine Tendenz zu verringerten Gewichtszunahmen (Tab. 8 S. 51, waagerechte Kolonnen), in extremen Fällen (Gruppen 17 bis 20 bei 6 und 10 % Linolsäuremethylester-Verfütterung) Wachstumsstill-

stand bzw. Gewichtsabnahmen mit hoher Mortalität (50 bis 60 %). Durch Vitamin-E-Gaben konnte die Mortalität nicht gesenkt werden.

Tabelle 8

Prozentuale Verringerung der Gewichtszunahmen im Vergleich zur jeweiligen Kontrolldiät mit Sojaöl (=100 %)

Fettgehalt in der Diät %	Sojaöl %	PME %	LME %	- 100	90	75	50	-
				-	10	25	50	100
0	-	+2,2	-	-	-	-	-	-
2	100	-	+2,4	-4,6	+1,5	-5,3	-13,0	
6	100	-	-8,3	-5,3	-7,1	-22,7	-100	
10	100	-	-21,5	-8,2	-10,6	-49,8	-100	

PME = Palmitinsäuremethylester

LME = Linolsäuremethylester

In diesem Zusammenhang sei darauf hingewiesen, dass mit steigendem Gehalt an Linolsäuremethylester in der Diät die Hämatokritwerte niedriger werden (vergl. Tab. 6 S. 47). Es kann dies als ein Hinweis darauf angesehen werden, dass ein hoher Anteil ungesättigter Fettsäuren im Futter für die junge, wachsende Ratte toxisch wirkt (vergl. auch pathologischen Befund S. 40).

Zusammenfassung

Im Literaturteil wurden Stoffwechselfunktionen des Vitamins E und Mangelerscheinungen bei ungenügender Zufuhr erörtert. Darüber, ob Vitamin E neben seiner antioxydantischen Wirkung weitere spezifische Aufgaben im Organismus zu erfüllen hat, besteht keine Überein-

stimmung.

Die eigenen Untersuchungen ergaben, dass bei Verfütterung einer halbsynthetischen, weitgehend Vitamin-E-armen Diät an wachsende Ratten in wenigen Tagen Vitamin-E-Mangelsymptome (herabgesetzte Hämolyseresistenz) auftraten. Die Gewichtsentwicklung war dabei innerhalb des geprüften Zeitraumes (drei Wochen nach Absetzen der Jungtiere) nicht beeinträchtigt. Eine Vitamin-E-Verarmung durch Verfütterung einer Vitamin-E-freien Diät an vorher reichlich mit Vitamin E versorgte Ratten gelang erst nach drei (herabgesetzte Hämolyseresistenz) bzw. neun Monaten (Auftreten von Muskeldystrophie).

Eine Abhängigkeit des Vitamin-E-Bedarfs vom Anteil ungesättigter Fettsäuren im Fett der Diät (geprüft mit Mischungen aus Palmitinsäure- und Linolsäuremethylestern) konnte im Gegensatz zu verschiedenen Literaturangaben nicht festgestellt werden. Die Erhöhung des Gesamtfettanteils in der Diät bewirkte jedoch unabhängig von der Fettzusammensetzung eine Steigerung des Vitamin-E-Bedarfs: Bei 2 % Fett im Futter konnte durch 20 mg dl- α -Tocopherylacetat/kg Diät, bei 10 % Fett jedoch erst durch 40 mg dl- α -Tocopherylacetat/kg Diät eine Herabsetzung der Hämolyseresistenz verhindert werden.

Bei gleichem Gesamtfettanteil in der Diät, jedoch mit steigendem prozentualen Gehalt an Linolsäuremethylester in der Mischung mit Palmitinsäuremethylester, zeigten die Gewichtszunahmen der wachsenden Ratten eine Tendenz zur Verringerung. Mit steigendem Gesamtfettanteil in der Diät, aber gleichem Mischungsverhältnis der beiden Fettsäuremethylester nahmen die Gewichtszunahmen ebenfalls ab.

VI. Literaturverzeichnis

- Aaes-Jørgensen, E., Dam, H., Granados, H. 1951, Acta Pharmacol. Toxic. 7, 171
- Abderhalden, R. 1945, Z. Vitamin. 16, 309
- Abderhalden, R. 1947, Biochem. Zschr. 318, 47
- Albritton, E.C. 1953, Saunders Company (Philadelphia and London)
- Aloisi, M., Meldolisi, G. 1940, Lo Sperimentale 94, 742,
- Anderson, H.D., Elvehjem, C.A., Gonze, J.S. 1939, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 42, 750
- Bergel, F., Jacob, A., Todd, A.R., Work, T.S. 1938 a, Nature, 142, 36
- Bergel, F., Copping, A.M., Jacob, A., Todd, A.R., Work, T.S. 1938 b, J. Chem. Soc. 1382
- Bieri, J.G., Dam, H., Prange, I., Søndergaard, E. 1961, Acta physiol. Scand. 52, 36
- Binnington, D.S., Andrews, J. S. 1941, Cereal Chem. 18, 678
- Blaxter, K.L. 1962, Vitamins and Hormones, 20, 633
- Bolliger, H.R., Bolliger-Quaife, M.L. 1956, Intern. Kongreß Vitamin E, 3., Venedig, 1955, 30
- Bomskow, S., v. Kaula, K.N. 1941, Klin. Wschr. 19, 334
- Boyer, P.D. 1960, in "The Enzymes", 2. Aufl. Bd. 3 S. 353-368, Academic Press, New York
- Bouman, J., Slater, E.C. 1956, Nature, 177, 1181
- Bouman, J., Slater, E.C. 1957, Biochem. Biophys. Acta 26, 624
- Brown, F. 1953, J. Sci. Food Agr. 4, 161
- Brubacher, G., Schärer, K., Studer, A., Wiss, O. 1965, Z. Ernährungswiss. 5, 190
- Brüggemann, J., Niesar, K.-H. 1954, Dtsch. tierärztl. Wschr. 61, 375

- Brüggemann, J., Niesar, K.-H., 1963, Int. Zschr. Vitaminf. 33,
Zentz, Ch. 180
- Bunell, R.H. 1957, Poultry Sci. 36, 413
- Bunyan, J., Diplock, A.T., 1967, Brit. J. Nutr. 21, 217
Green, J.
- Bunyan, J., Green, J., Murrell, 1968, Brit. J. Nutr. 22, 97
E.A., Diplock, A.T., Cawthorne,
M.A.
- Calkins, V.B., Matill, H.A. 1944, J. Am. Chem. Soc. 66, 239
- Christensen, F., Dam, H. 1951, Acta Pharmacol. Toxic. 7,
167
- Corwin, L.M., Schwarz, K., 1960 a, Nature, 186, 1048
- Corwin, L.M., Schwarz, K. 1960 b, J. Biol. Chem. 235, 3387
- Csallany, A.S., Draper, H.H. 1962, Fed. Proc. 21, 475
- Culik, R., Bacigalupo, F.A., 1951, Animal Sci. 10, 1006
Thorp, F., Luebke, R.W., Nel-
son, R.H.
- Curto, G.M. 1954, Acta Vitaminologica 8, 7
- Cuthbertson, W.F.J., Ridgeway, 1940, Biochem. J. 34, 34
R.R., Drummond, J.C.
- Dam, H. 1957, Pharm. Revs. 9, 1
- Dam, H. 1962, Vitamins and Hormones 20,
527
- Dam, H., Glavind, J. 1939, Scand. Arch. Physiol. 82,
299
- Dam, H., Granados, H. 1945, Acta Physiol. Scand. 10,
162
- Dam, H., Granados, H. 1951, Acta Pharmacol. Toxic. 7,
181
- Dam, H., Kruse, I., Prange, 1951, Acta Physiol. Scand. 22,
I., Søndergaard, E. 299
- Dam, H., Prange, I., Sønder- 1952, Acta Pharmacol. Toxic. 8,
gaard, E. 23
- Dam, H., Nielsen, K.G., Prange, 1958, Nature 182, 802
I., Søndergaard, E.

- Day, P.L., Dinning, J.S. 1956, Am. J. Clin. Nutr. 4, 386
- de Duve, C. 1959, in "Subcellular Particles", 128, (Hrsg. T. Hayashi), Rouald, New York
- Demole, V., Pfaltz, H. 1939, Schweiz. Med. Wschr. 69, 123
- Dinning, J.S. 1962, Vitamins and Hormones 20 511
- Diplock, A.T., Bunyan, J., McHale, D., Green, J. 1967, Brit. J. Nutr. 21, 103
- Dju, M.Y., Quaife, M.L., Harris, P.L. 1950, Am. J. Physiol. 160, 259
- Draper, H.H., Csallany, A.S. 1958, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 99, 739
- Drepper, K., Udes, H. noch nicht veröffentlicht
- Emmerie, A., Engel, C. 1938, Recueil Trav. chim. Fay-Bas 57, 1351
- Emmerie, A., Engel, C. 1939, Recueil Trav. chim. Fay-Bas 58, 283
- Emmerie, A., Engel, C. 1943, Zschr. Vitaminf. 13, 259
- Evans, H.M., Bishop, S. 1922, Science 56, 650
- Evans, H.M., Burr, G.O. 1927, Mem. Univ. Calif. 8, 1
- Evans, H.M., Burr, G.O. 1928, J. Biol. Chem. 76, 273
- Fieser, L.F., Tishler, M., Wandler, N.L. 1940, J. Am. Chem. Soc. 62, 2861
- Fite, G.L. 1954, Ann. N.Y. Acad. Sci. 57, 831
- Fragner, J. 1965, "Vitamine", Bd. II, VEB G. Fischer, Jena
- Friedmann, L., Weiß, W., Wherry, F., Kline, O.L. 1958, J. Nutr. 65, 143
- Goettsch, M. 1942, J. Nutr. 23, 513
- Gray, D.E. 1960, J. Vitaminol. (Osaka) 6, 1061

- Green, J., Mamalis, R., Marcinkiewicz, S., McHale, D. 1960, Chem. and Ind. (London), 73
- Green, J., Diplock, A.T., Bunyan, J., McHale, D., Muthy, I.R. 1967, Brit. J. Nutr. 21, 69
- Griffiths, T.W. 1959, Nature 183, 1061
- Griffiths, T.W. 1960, Brit. J. Nutr. 14, 269
- György, P. Goldblatt, H. 1942, J. exp. Med. 75, 355
- György, P., Rose, C.S. 1949, Ann. N.Y. Acad. Sci. 52, 231
- Hill, H. 1957, Dtsch. Tierärztl. Wschr. 64, Nr. 12 und 14 (Sonderdruck)
- Hinsworth, H.P., Lincoln, O., Lindan, O. 1949, Nature 163, 30
- Horn, Z., Brogsch, S., Altmann, O. 1955, Zschr. ges. inn. Med. 10, 1940
- Horwitt, M.K. 1961, Borden's Rev. Nutr. Res. 22, 1
- Horwitt, M.K. 1962, Vitamins and Hormones 20, 541
- Horwitt, M.K., Harvey, C.C., Duncan, J.D., Wilson, W.C. 1956, Clin. Nutr. 4, 408
- Hove, E.L., Copeland, D.H., Salomon, W.D. 1949, J. Nutr. 39, 397
- Hove, E.L., Hardin, J.O. 1951 a, Fed. Proc. 10, 385
- Hove, E.L., Hardin, J.O. 1951 b, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 77, 502
- Iwanowska, J. und Mitarb. 1958, Acta, physiol. polon. 9, 257
- I.U.P.A.C., Commission of Nomenclature 1960, J. Am. Chem. Soc. 82, 5581
- Jung, S. 1962, "Grundlagen für die Zucht und Haltung der wichtigsten Versuchstiere", G. Fischer, Stuttgart
- Kaag, F.C vander, Teunissen, G.H.B., Emmerie, A., Eckelen, M. 1949, Ann. N.Y. Acad. Sci. 52, 276

- Karrer, P., Fritsche, H. 1938, *Helv. Chim. Acta* 21, 1234
- Karrer, P., Fritsche, H., Ringier, B.H., Salomon, H. 1938 a, *Helv. Chim. Acta* 21, 520
- Karrer, P., Fritsche, H., Ringier, B.H., Salomon, H. 1938 b, *Helv. Chim. Acta* 21, 820
- Karrer, P., Isler, O. 1938, U.S. Patent 2411967
- Karrer, P., Isler, O. 1941, U.S. Patent 2411969
- Karrer, P., König, H., Ringier, B.H., Salomon, H. 1939, *Helv. Chim. Acta* 22, 1139
- Klatskin, G., Molander, D.W. 1952 a, *J. Clin. Invest.* 31, 159
- Klatskin, G., Molander, D.W. 1952 b, *J. Lab. Clin. Med.* 39, 802
- Klussendorf, R.C. 1955, *North. Am. Vet.* 36, 909
- Kofler, M. 1942, *Helv. Chim. Acta* 25, 1469
- Kofler, M. 1943, *Helv. Chim. Acta* 26, 2166
- Kofler, M., Sommer, P.F., Boliger, H.R., Schmidli, B., Vecchi, M. 1962, *Vitamins and Hormones* 20, 407
- Kostir, J. 1965, in "Vitamine", Bd. II, 1952, (Hrsg. J. Fragner), VEB G. Fischer, Jena
- Kühnau, J. 1966, *Bibl. Nutr. et Dieta* 8, 17
- Lopes de Faria 1946, *J. Am. Med. Ass.* 131, 626
- Lopes de Faria 1949, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 52, 121
- Lundberg, W.O. 1962, in "Symposium on Foods: Lipids and their Oxydation", (Hrsg. H.W. Schultz, E.A. Day, R.O. Sinnhuber), AVI Publ. Comp.
- Markees, S. 1953, *Exp. Suppl.* 1, 208
- Markees, S. 1954, *Helv. Med. Acta* 21, 516
- Markees, S. 1956, *Int. Zschr. Vitaminf.* 22, 335
- Martius, C. 1962, *Vitamins and Hormones* 20, 457

- Mason, K.E. 1954, The Vitamins 3, 520 zit. Mason
- Mason, K.E., Emmel, A.F. 1945, Anat. Record 92, 33
- Mason, K.E., Maurer, S.J., Rumery, R.E. 1955, Proc. Third Int. Congr. Vit. E., Venice Italy
- Moore, T., Sharman, I.M., Ward, R.J. 1954, Biochem. J. 58, vii
- Nation. Acad. Sciences, Nation. Res. Counc. 1962, Nutrient Requirements of Laboratory Animals
- Niesar, K.-H. 1965, Kleintier-Praxis, 10, 1
- Obel, A. 1953, Elnar Munksgaard Copenhagen, Publ. 990
- Olcott, H.S. 1938, J. Nutr. 15, 221
- Olcott, H.S., Matill, H.A. 1941, Chem. Revs. 29, 257
- Pudelkiewicz, W.J., Matterson, L.D. 1960, J. Nutr. 71, 143
- Pudelkiewicz, W.J., Olson, G., Matterson, L.D., Suden, J.R. 1964, J. Nutr. 83, 111
- Quaife, M.L., Swanson, W.J., Dju, M.Y., Harris, P.L. 1949, Ann. N.Y. Acad. Sci. 52, 300
- Rogers, W.M., Pappenheimer, A.M. 1931, J. exp. Med. 54, 167
- Roubal, W.T., Tappel, A.L. 1966, Arch. Biochem. 113, 5
- Ruppel, W. 1949, Arch. Exper. Path. Pharm. 206, 584
- Schermer, S. 1958, in "Pathologie der Laboratoriumstiere", Bd. I, 188, (Hrsg. P. Cohrs, R. Jaffé, H. Meessen) Springer Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg
- Schwarz, K. 1944 a, Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem. 281, 101
- Schwarz, K. 1944 b, Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem. 281, 109
- Schwarz, K. 1951 a, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 78, 852

- Schwarz, K. 1951 b, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 77, 818
- Schwarz, K. 1954, Ann. N.Y. Acad. Sci. 57, 878
- Schwarz, K. 1958, in "Liver Function" (ed. R. W. Brauner), 509. Am. Inst. of Biol. Sci., Wash., DC
- Schwarz, K. 1960, Nutr. Rev. 18, 193
- Schwarz, K. 1961 a, Am. J. Clin. Nutr. 9, 71
- Schwarz, K. 1961 b, Am. J. Clin. Nutr. 9, 94
- Schwarz, K. 1962 a, Vitamins and Hormones 20, 463
- Schwarz, K. 1962 b, in "Symposium on Foods: Oxydative Detoriation of Food Lipids" (ed. H.W. Schultz), Kap. 20, Mack Print. Comp.
- Schwarz, K., Stesney, J., Foltz, C.M. 1959, Metabolism 8, 88
- Schwarz, K., Foltz, C.M. 1960, Fed. Proc. 19, 421
- Schwarz, K., Mertz, W., Lee, C.E. 1961, zit. n. Schwarz, K. 1962 a
- Scott, M.L. 1962, Nutr. Abstr. and Revs. 32, 1
- Scott, M.L., Hill, F.W., Norris, L.C., Dobson, D.C., Nelson, T.S. 1955, J. Nutr. 56, 387
- Sebrell, W.H., Harris, R.S. 1954, The Vitamins, New York
- Simon, E.J., Gross, C.S., Milhorat, A.T. 1954, Fed. Proc. 13, 406
- Simon, E.J., Eisengart, A., Milhorat, A.T. 1955, Fed. Proc. 14, 281
- Simon, E.J., Gross, C.S., Milhorat, A.T. 1956 a, J. Biol. Chem. 221, 797
- Simon, E.J., Eisengart, A., Sundheim, L., Milhorat, A.T. 1956 b, J. Biol. Chem. 221, 807
- Singsen, E.P., Burnell, R.H., Matterson, L.D., Kozeff, A., Jungherr, E.L. 1955, Poultry Sci. 34, 262

- Slater, E.C. 1960, Proc. Intern. Congr. Biochem., Wien, Symp. Vitamin Metab., 1958, 316, Pergamon Press, New York
- Smith, L.J., Ungnade, H.E., 1939, J. Am. Chem. Soc. 61, 2615
Stevens, J.R., Christmann, C.C.
- Stepp, W., Kühnau, J., Schroe- 1957, "Die Vitamine und ihre klinische Anwendung", 7. Aufl., S. 116, Ferd. Enke
der, J.H.
- Sternberg, J., Pascoe-Dawson, 1959, Can. Med. Assoc. J. 80, 266
E.
- Sure, B. 1924, J. Biol. Chem. 58, 693
- Tappel, A.L. 1962, Vitamins and Hormones 20, 493
- Tappel, A.L., Zalkin, H. 1959, Arch. Biochem. Biophys. 80, 333
- Tonutti, E. 1943, Zschr. f. Vitaminf. 13, 1
- Tsen, C.C., Collier, H.B. 1960, Can. J. Biochem. Physiol. 38, 957
- Uri, N. 1961, in "Autoxydation and Antioxydants", I.S. 133, (ed. Lundberg, W.O.) Interscience, N.Y.
- Vasington, F.D., Reichard, 1960, Vitamins and Hormones 18, 43
S.M., Nason, A.
- Victor, J., Pappenheimer, A.M. 1945, J. exp. Med. 82, 375
- Weber, F., Weiser, H., Wiss, O. 1964, Z. Ernährungswiss. 4, 245
- Weber, F., Wiss, O. 1966, in "Antivitaminen", Bibl. Nutr. et Dieta, 8, 54
- Weichet, J. 1965, in "Vitamine", Bd. II. S. 1543, (Hrsg. J. Fragner), VEB G. Fischer, Jena
- Wiesner, E. 1967, in "Ernährungsschäden der landw. Nutztiere", S. 311, VEB G. Fischer, Jena
- Wiss, O., Bunell, R.H., Gloor, 1962, Vitamins and Hormones 20, 441
U.
- Wiss, O., Weber, F. 1965, Z. Ernährungsw., Suppl. 4, 152

Zagami, V., Sindoni, M.

1934, Rev. di Pathol. exp. 12

Zalkin, H., Tappel, A.L.,
Caldwell, K.A., Shibko, S.,
Desai, I.D., Holliday, T.A.

1962, J. Biol. Chem. 237, 2678

VII. TABELLENANHANG

Tabelle 9

Versuch I

Gr.	24 Fettanteil in der Ausgangsdiet	DJZ ⁺	Vit. E mg/kg Diet	1. Woche		2. Woche		3. Woche		1.-3. Woche		Hämolyse n. Tg. ⁺⁺ in %			
				Gew.-Z. g/Tier/ Tag	Fut.- Verw. Tag	Gew.-Z. g/Tier/ Tag	Fut.- Verw. Tag	Gew.-Z. g/Tier/ Tag	Fut.- Verw. Tag	Gew.-Z. g/Tier/ Tag	Fut.- Verw. Tag	5	9	13	21
1	Sojaöl	250	150	4,3	2,2	4,8	2,6	4,6	3,3	4,6	2,7	2	2	2	0
2	Sojaöl	250	-	4,1	2,7	5,0	2,3	4,3	4,0	4,5	3,0	75	86	83	87
3	Fettsäure- thylesterge- misch	261	-	4,3	2,3	4,4	2,8	4,0	3,8	4,2	3,0	77	89	88	80
4	Palmin	15	-	4,2	2,4	4,5	2,8	4,0	3,7	4,2	3,0	86	89	99	95
5	Schweine- schmalz	104	-	5,2	2,2	5,0	2,6	3,9	3,9	4,7	2,9	85	86	96	92

+ DJZ = Diätjodzahl, vergl. S. 39
 ++ gemessen im Hämolysetest, vergl. S. 32

Gr.	2% Fettanteil in der Ausgangsdiet	DJZ mg/kg Diet	1. Woche		2. Woche		3. Woche		1.-3. Woche		Hämolyse n. Ig. ⁺ in %		
			Gew.-Z. g/Tier/ Tag	Fut.- Verw. Tag	Gew.-Z. g/Tier/ Tag	Fut.- Verw. Tag	Gew.-Z. g/Tier/ Tag	Fut.- Verw. Tag	Gew.-Z. g/Tier/ Tag	Fut.- Verw. Tag	7	14	21
1	100	-	0,5	0	4,9	1,7	4,4	2,6	4,7	3,0	4,7	2,4	62
2	100	-	0,5	20	4,1	1,9	4,0	2,7	4,5	3,1	4,2	2,6	1
3	100	-	0,5	40	3,6	2,1	3,5	2,7	4,0	3,3	3,7	2,7	2
4	100	-	0,5	60	4,3	2,0	4,5	2,6	3,5	3,9	4,1	2,8	1
5	90	10	32,5	0	3,9	2,0	4,3	2,5	3,6	3,6	3,9	2,7	69
6	90	10	32,5	20	3,4	2,0	4,1	2,5	3,7	3,0	3,7	2,5	1
7	90	10	32,5	40	3,5	2,0	4,2	2,6	4,2	2,9	3,9	2,5	1
8	90	10	32,5	60	3,5	2,1	4,3	2,6	4,0	3,1	3,9	2,6	1
9	75	25	80,5	0	4,2	1,9	4,2	2,5	3,5	3,3	4,0	2,6	93
10	75	25	80,5	20	3,5	2,0	4,5	2,3	4,0	2,9	4,0	2,4	1
11	75	25	80,5	40	4,4	1,8	4,6	2,3	4,8	3,0	4,6	2,4	1
12	75	25	80,5	60	3,5	2,0	4,2	2,4	4,1	2,9	3,9	2,5	1
13	50	50	161	0	4,1	2,0	4,7	2,4	3,9	3,5	4,2	2,6	70
14	50	50	161	20	3,3	2,1	4,4	2,3	3,8	3,1	3,8	2,5	1
15	50	50	161	40	3,8	2,0	3,9	2,5	3,7	3,3	3,8	2,6	0
16	50	50	161	60	3,4	2,1	4,2	2,5	3,1	3,6	3,6	2,7	1
17	-	100	322	0	3,1	2,2	3,9	2,7	3,5	3,7	3,5	2,9	28
18	-	100	322	20	3,2	2,1	3,6	2,6	3,9	3,1	3,6	2,6	0
19	-	100	322	40	3,3	2,1	3,7	2,8	3,2	4,1	3,4	3,0	0
20	-	100	322	60	3,5	2,0	3,7	2,8	3,9	3,4	3,7	2,7	0
21	-	-	0	0	4,3	1,9	4,5	2,7	4,4	3,3	4,4	2,6	35
22	-	-	0	20	4,2	2,0	4,0	2,9	3,9	3,6	4,0	2,8	0
23	-	-	0	40	4,3	1,9	3,4	3,2	4,3	3,2	4,0	2,8	0
24	-	-	0	60	4,3	2,0	4,4	2,8	3,9	3,6	4,2	2,8	0
25	Sojaöl	250	150		3,8	2,0	4,3	2,5	4,1	3,1	4,1	2,5	-

PME = Palmitinsäuremethylester

LME = Linolsäuremethylester

DJZ = Diätfazahl, vergl. S. 39

⁺ gemessen im Hämolysetest, vergl. S. 32

Tabelle 11

Versuch III

Gr.	6% Fettanteil in der Ausgangsdiet %	DZ LVE	Vit. E mg/kg Diet	1. Woche Gew.-Z/ R/Tier/ Tag	Fut.- Z/ Verw.	2. Woche Gew.-Z/ R/Tier/ Tag	Fut.- Z/ Verw.	3. Woche Gew.-Z/ R/Tier/ Tag	Fut.- Z/ Verw.	1.-3. Woche Gew.-Z/ R/Tier/ Tag	Fut.- Z/ Verw.	Hämolyse in %	n. Tg.		
1	100	-	1,5	0	4,4	2,0	4,9	2,4	4,3	3,1	4,6	2,5	20	25	40
2	100	-	1,5	20	3,5	2,5	5,2	2,4	4,8	2,9	4,5	2,6	2	1	7
3	100	-	1,5	40	4,4	2,0	4,5	2,5	4,8	2,9	4,6	2,5	0	1	2
4	100	-	1,5	60	4,3	2,0	5,3	2,4	5,4	2,9	5,0	2,4	1	1	2
5	90	10	98	0	4,3	1,9	4,6	2,6	5,9	2,5	4,9	2,2	18	35	47
6	90	10	98	20	4,3	1,9	4,9	2,4	5,0	2,7	4,7	2,3	2	34	5
7	90	10	98	40	4,1	2,1	5,1	2,1	5,2	2,8	4,8	2,3	4	44	5
8	90	10	98	60	4,4	1,9	5,0	2,4	4,7	3,2	4,7	2,5	0	1	0
9	75	25	243	0	4,1	1,9	5,0	2,2	4,3	3,0	4,5	2,4	17	21	36
10	75	25	243	20	4,2	1,9	5,4	2,1	4,8	3,0	4,8	2,3	3	8	5
11	75	25	243	40	4,4	1,9	4,8	2,3	4,3	3,1	4,5	2,4	0	2	0
12	75	25	243	60	4,8	1,3	5,0	2,2	5,2	2,7	5,0	2,2	0	0	0
13	50	50	484	0	3,9	1,9	3,9	2,3	3,2	3,1	3,7	2,4	18	20	39
14	50	50	484	20	3,3	2,0	3,8	2,4	4,9	2,4	4,1	2,3	1	2	4
15	50	50	484	40	4,0	1,8	3,3	2,8	4,4	2,5	3,9	2,4	0	0	1
16	50	50	484	60	3,7	1,3	3,4	3,1	4,6	2,6	3,9	2,5	0	1	0
17	-	100	966	0	0,9	5,2	0,5	12,1	keine Zunahmen der überlebenden Tiere						
18	-	100	966	20	1,5	3,0	1,4	11,0							
19	-	100	966	40	1,0	3,0	0,8	7,1							
20	-	100	966	60	1,4	3,2	0,4	7,0							
25	Sojabl	750	150	4,7	1,7	5,2	2,1	5,2	2,8	5,1	2,2	-	-	-	-

PME = Palmitinsäuremethylester

LVE = Linolsäuremethylester

DZ = Diäthylol, vergl. S. 39

+ gemessen im Hämolysetest, vergl. S. 32

Tabelle 12

Versuch IV

Gr. 10%	Fettanteil in der Ausgangsdiet PME %	DJZ mg/kg Diet	Vit.E mg/kg Diet	1. Woche		2. Woche		3. Woche		1.-3. Woche		Hämolyse n. Ig. + in %		
				Gew.-Z. g/Tier/ Tag	Fut.- g/Tier/ Tag	Gew.-Z. g/Tier/ Tag	Fut.- g/Tier/ Tag	Gew.-Z. g/Tier/ Tag	Fut.- g/Tier/ Tag	Gew.-Z. g/Tier/ Tag	Fut.- g/Tier/ Tag	7	14	21
				Verw.		Verw.		Verw.		Verw.				
1	100	-	2,5	0	3,8	2,1	4,7	2,0	3,5	3,6	4,0	34	27	45
2	100	-	2,5	20	3,7	2,1	4,3	2,0	3,3	4,2	3,8	24	9	10
3	100	-	2,5	40	4,0	1,9	4,3	2,0	3,4	3,5	3,9	12	1	2
4	100	-	2,5	60	3,4	2,2	4,0	1,9	3,5	3,2	3,6	10	3	0
5	90	10	163	0	4,0	1,9	4,5	2,0	3,9	3,3	4,1	84	59	71
6	90	10	163	20	3,9	2,1	5,0	1,9	5,0	2,8	4,6	78	34	22
7	90	10	163	40	4,3	2,0	4,6	2,2	3,9	3,2	4,3	76	4	3
8	90	10	163	60	4,5	2,0	5,0	2,0	4,9	2,8	4,8	19	3	1
9	75	25	404	0	4,2	1,9	4,5	1,9	3,2	3,2	4,0	84	67	79
10	75	25	404	20	4,1	1,9	4,9	1,9	4,4	2,8	4,5	60	35	51
11	75	25	404	40	4,0	1,9	4,6	1,9	3,9	2,9	4,2	12	1	3
12	75	25	404	60	4,4	1,8	5,1	1,8	4,8	2,7	4,8	3	0	1
13	50	50	806	0	2,5	2,3	3,7	1,5	1,2	6,0	2,5	73	67	73
14	50	50	806	20	3,7	1,8	2,8	2,3	2,3	3,9	3,0	2,7	20	16
15	50	50	806	40	2,6	2,2	2,5	1,2	1,2	5,6	2,1	3,4	1	1
16	50	50	806	60	3,1	2,0	2,0	2,7	1,5	4,9	2,2	3,2	2	0
17-20	-	100	1610	0-60	keine Zunahmen, 60% Mortalität, n. 14 Tagen getötet									
25	Sojaöl	1250	150	5,2	1,6	4,8	1,8	4,6	2,6	4,9	2,0	-	-	-

PME = Palmitinsäuremethylester

LME = Linolsäuremethylester

DJZ = Diäthylzahl, vergl. S. 39

+ gemessen im Hämolysetest, vergl. S. 32

Dem Direktor des Instituts für Veterinär-Biochemie der Tierärztlichen Fakultät der Freien Universität Berlin, Herrn Professor Dr. Dr. Kraft Drepper möchte ich für die Anregung des Themas und die Beratung während der Versuche herzlich danken.

Auch Herrn Dr. Hubert Weik aus dem gleichen Institut schulde ich Dank für seine Beratung bei der Anstellung der Versuche.

Lebenslauf

Am 1.1.1940 wurde ich als Sohn des Tierarztes Dr. Edgar Dennler und seiner Ehefrau Liselott, geb. Lück, in Ludwigsburg geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule von 1946 bis 1950 und der Schiller-Oberschule von 1950 bis 1953 in Ludwigsburg, besuchte ich von 1953 bis 1960 die Klenze-Oberrealschule in München, wo ich im Juli 1960 die Reifeprüfung bestand.

Vom Wintersemester 1961/62 an studierte ich an der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilian-Universität München, wo ich am 27.2.1963 die tierärztliche Vorprüfung bestand. Nach einem weiteren Semester in München setzte ich mein Studium vom Wintersemester 1963/64 bis Sommersemester 1965 an der Tierärztlichen Fakultät der Freien Universität Berlin fort, wo ich auch am 14.2.1966 die tierärztliche Hauptprüfung bestand. Meine Approbation als Tierarzt erhielt ich am 1.9.1966.

Seit dem 1.10.1966 bin ich mit der Wahrnehmung der Dienstgeschäfte eines wissenschaftlichen Assistenten am Institut für Veterinär-Biochemie der Tierärztlichen Fakultät der Freien Universität Berlin beauftragt.

